FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1966

N° 729

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Jacques SCHONBACH

Interne des Hôpitaux de Paris

né le 7 octobre 1935 à Paris

Présentée et soutenue publiquement le :

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU METABOLISME OXYDATIF DU TISSU NERVEUX ET DE SES COMPOSANTS CELLULAIRES PAR DES METHODES HISTO-ENZYMOLOGIQUES.

Président : M. P. CASTAIGNE, Professeur.

EDITIONS A.G.E.M.P. — 8, RUE DANTE - PARIS-Ve

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1966 N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Jacques SCHONBACH

Interne des Hôpitaux de Paris

né le 7 octobre 1935 à Paris

Présentée et soutenue publiquement le :

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU METABOLISME OXYDATIF DU TISSU NERVEUX ET DE SES COMPOSANTS CELLULAIRES PAR DES METHODES HISTO-ENZYMOLOGIQUES.

Président : M. P. CASTAIGNE, Professeur.

EDITIONS A.G.E.M.P. — 8, RUE DANTE - PARIS-Ve

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

1/1/1966

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

DOYEN . . . . . Georges BROUET.

1er ASSESSEUR . . . . . Daniel BARGETON

2e ASSESSEUR . . . . . Jean GOSSET

I. — PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie et cytologie pathologiques	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Bactériologie et virologie	TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
—	POLONOVSKI (J.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
—	DOGNON (A.)
—	DJOURNO (A.)
Cancérologie médicale et sociale	DENOIX (P.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	COURY (Ch.)
Histologie	GIROUD (A.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
—	KUSS (R.)
—	VERNE (J.-M.)
Pathologie exotique	N...
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl.)
—	BRICAIRE (H.)
—	PÉQUIGNOT (H.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	N...
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
—	LEVY (Mlle J.)
Physiologie	BARGETON (D.)
—	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)

	MM.
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	CAUCHOIX (J.)
Thérapeutique	CONTE (M.)
Thérapeutique appliquée	LAMOTTE (M.)

b) Professeurs à titre personnel :

Anatomie anthropologique	OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique	NEZELOF (Ch.)
Bactériologie	BARBIER (P.)
Biochimie médicale	DESGREZ (P.)
	DREYFUS (J.-Cl.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Histologie	COUJARD (R.)
Parasitologie	LARIVIÈRE (M.)
Pathologie expérimentale	LOEPER (J.)
	RICHET (G.)
Physiologie	DEJOURS (P.)
	ROUCAYROL (J.-Cl.)
	SCHERRER (J.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.)
	GOUGEROT (L.)
	TUBIANA (M.)
Radiologie médicale	FISCHGOLD (H.)

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

		MM.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)		REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)		SOULIÉ (P.)
— — (Boucicaut)		LENÈGRE (J.)
Cliniques chirurgicales	Beaujon	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	—	N...
	Cochin	LEGER (L.)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
	Saint-Antoine	GOSSET (J.)
	Salpêtrière	SICARD (A.)
	Tenon	OLIVIER (Cl.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)		MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
— — — (Foch)		PADOVANI (P.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)		FÈVRE (M.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)		MATHEY (J.)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)		DUPERRAT (F.)
Clinique endocrinologique (Pitié)		DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)		LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)		HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)		DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)		TURPIN (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)		DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)		HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)		BERNARD (J.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		CASTAIGNE (P.)
Cliniques medicales	Bicêtre	DEPARIS (M.)
	Broussais	MILLIEZ (P.)
	Cochin	BROUET (G.)
	Hôtel-Dieu	BARIÉTY (M.)
	Lariboisière	SÈZE (S. de)
	Pitié	DREYFUS (G.)
	Saint-Antoine	KOURILSKY (R.)
	Saint-Antoine	BOUDIN (G.)

	MM.
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	DEBRAY (Ch.)
Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	JUSTIN-BESANÇON (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales — Baudelocque	LACOMME (M.)
Cliniques obstétricales — Saint-Antoine	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	OFFRET (G.)
— — (Cochin)	BREGEAT (P.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie	MOZZICONACCI (P.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	THIEFFRY (S.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)	BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique	GAULTIER (M.)
Clinique traumatologique et orthopédique (R.-Poincaré)	JUDET (R.)
Clinique urologique (Cochin)	ABOULKER (P.)
— — (Necker)	COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	LAPLANE (R.)
Séméiologie médicale (A. Chantin)	DOMART (A.)
— — (Lariboisière)	BOUVRAIN (Y.)
— — (Pitié)	RAMBERT (P.)
— — (Rothschild)	WOLFROMM (R.)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais)	POILLEUX (F.)

b) Professeurs à titre personnel :

Hématologie	ANDRÉ (R.)
	BOUSSER (J.)
Hydrologie et climatologie	GIBERTON (A.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.)
Médecine	AZERAD (E.)
	BOUR (H.)
	CABROL (Ch.)
	GROSSIORD (A.)
	LAMBLING (A.)
	LAUNAY (Cl.)
	PAYET (M.)
	PERRAULT (M.)
	SIGUIER (F
	WORMS (R.)
Neuro-chirurgie	LE BEAU (J.)
Neurologie	LHERMITTE F.
Neuro-psychiatrie	PICHOT (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie	MADURO (R.)
Pédiatrie	POLONOVSKI (Cl.)
	ROYER (P.)
Pneumo-Phtisiologie	KREIS (B.)
	MEYER (A.)
Rhumatologie	DELCARRE (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM.		MM.
Anatomie pathologique	GOUYGOU (Ch.)	Hématologie	BILSKI-PASQUIER (G.)
Anesthésiologie	VOURC'H (G.)	Maladies infectieuses	DUPONT (V.)
Bactériologie	CHRISTOL (D.)	Physique médicale	COURSAGET (J.) GREMY (F.)
Biochimie médicale	CARTIER (P.) GONNARD (P.)	Physiologie	GIRARD (Fr.)
Biologie médicale	HARTMANN (L.)	Stomatologie	CHAPUT (Mme A.)
		Thérapeutique	CHASSAGNE (P.)

III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

IV. — PROFESSEUR ASSOCIÉ

Statistique médicale et épidémiologique	SCHWARTZ (D.)

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseillers administratifs	Mlle CHAINTREUIL (G.) M. FAYE (R.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateurs	Mlles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.), LE NOIR (G.),
Bibliothécaires	Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles DUROZOY (M.-F.), ROBERGE (D.), Dr SCHILLER (J.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A Monsieur le Professeur Paul CASTAIGNE

Titulaire de la Chaire de Clinique des Maladies du Système Nerveux.

Médecin de l'Hôpital de la Salpétrière.

Qui m'a fait le grand honneur d'accepter de présider cette thèse.

Je le remercie pour ses encouragements.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545816_0051

A Monsieur le Professeur agrégé Louis ORCEL, mon Maître,

Biologiste des Hôpitaux de Paris

Chef du service d'Anatomie Pathologique du
CHU Saint-Antoine.

Je le remercie pour les facilités
qu'il m'a accordées et pour la
confiance dont il a fait preuve
à mon égard.

A mon Maître, Monsieur le Docteur Gérard GUIOT

Neuro-Chirurgien de l'Hôpital Foch.

Ce faible témoignage de ma grande
admiration.

A mes Maîtres d'Internat :

M. le Professeur AZERAD

M. le Professeur GROSSIORD

A mes Maîtres d'Externat :

M. le Docteur BLONDIN

M. le Professeur de SEZE

M. le Professeur MOLLARET

M. le Docteur BENDA

A Madame le Docteur G. ARFEL

A Messieurs :

le Professeur agrégé S. BRION

le Docteur J. P. HELD

le Professeur agrégé J. LUBETSKI

le Docteur J. ROUGERIE

le Professeur agrégé Cl. AMIEL

le Docteur F. FRANCHEL.

A ma femme ,

Aux miens ,

A mes amis.

TABLE DES ABREVIATIONS EMPLOYEES

ADN : Acide désoxy-ribonucléique .

ARN : Acide ribo-nucléique .

DPN : Diphospho-pyridine nucléotide. Nous avons préféré cette terminologie à celle recommandée récemment par l'union internationale de Biochimie (NAD) car elle est encore la plus employée dans les milieu médicaux.

DPNH : DPN réduit .

DPND : DPN Diaphorase .

F : Flavoprotéine .

G6PDH : Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase.

LDH : Déshydrogénase lactique.

MDH : Malate-deshydrogénase.

SDH : Succinate-déshydrogénase .

UQ : Cytochrome Q .

Cyt : Adénosine tri-phosphate.

TPN : Tri-Phospho-Pyridine nucléotide (préféré à NADP).

TPNH : TPN réduit.

TPND : TPN Diaphorase.

Certaines abréviations, notamment celles ayant trait aux différents sels de tétrazolium, sont explicitées dans le texte. Ces abréviations sont employées d'une manière usuelle.

oOo

INTRODUCTION

Un des motifs principaux qui poussent les médecins à l'étude du système nerveux et de ses maladies, est, d'essayer par ce moyen, de mieux comprendre la manière dont fonctionne l'esprit humain.

La méthode anatomo-clinique, pendant plusieurs décennies, a été la seule employée en vue de classer, et de comprendre les processus pathologiques. L'avènement de la physiologie moderne, et de la biochimie, en même temps qu'elles apportaient des données nouvelles au pathologiste, l'obligeait à repenser en des termes plus dynamiques et plus étendus, les connaissances des maladies, qu'il avait acquises, par la clinique et l'histologie traditionnelle.

Ceci est particulièrement vrai pour la neurologie, où nous vivons quotidiennement encore sur les acquisitions de la méthode anatomo-clinique, dont l'école française a magistralement établi les bases; mais les apports constants de la physiologie, de la chimie et de la pharmacologie, nous poussent à déborder de notre cadre classique, qui d'ailleurs se révèle impuissant à résoudre les douloureux problèmes qui affrontent à tous moments le neurologue.

La neurochimie est un champ d'investigation vers lequel de nombreux chercheurs se sont dirigés depuis une décade. L'histochimie qualitative sur lame, est une des techniques de cette discipline, les plus aisées, à pratiquer et à interpréter.

Ayant eu la chance de pouvoir travailler dans le laboratoire d'anatomie pathologique du CHU Saint-Antoine dirigé par notre Maître, le professeur agrégé Louis ORCEL, nous avons profité des larges opportunités dont ce département est douées, et de la liberté totale que son chef nous a laissée pour nous intéresser à l'histo-enzymologie oxydative du tissu cérébral. Des retards matériels ont fait que ce travail parait fragmentaire surtout dans sa partie chimio-anatomique.

- Néanmoins nous avons réuni un ensemble de documents assez cohérent pour nous permettre de tirer des conclusions homogènes.

- Notre exposé sera divisé en quatre parties :

I - Rappel biochimique : le métabolisme oxydatif et ses constituants.

2 - Technologie de l'histochimie des enzymes oxydatifs.

3 - Chimio-architectomie oxydative du tissu cérébral.

4 - Métabolisme oxydatif des éléments cellulaires du tissu cérébral.

- Nous nous sommes efforcés, au cours des commentaires qui suivront l'exposé de nos résultats, de mettre l'accent sur un certain nombre de problèmes, qui intéressent au premier plan les pathologistes.

- Ce travail ne doit pas malgré tout être considéré comme autre chose que l'oeuvre d'un débutant en la matière. C'est la seule justification que nous pouvons apporter à ses imperfections.

oOo

1ère PARTIE

RAPPEL BIOCHIMIQUE

Bien que le poids du cerveau représente environ 2,5 % du poids corporel, les mesures du débit sanguin intra-cérébral montrent, qu'il dispose de 20 à 25 % du total de l'oxygène absorbé par la respiration (SCHEINBERG et al. 1949).

En outre le tissu cérébral dépend pour ses besoins énergétiques, presque exclusivement du glucose, ce qui explique sa sensibilité particulière à l'hypoglycémie (HIMWICH 1951).

Ce sont des enzymes entrant en jeu dans ces processus métaboliques que nous allons étudier dans ce travail.

Le bref rappel biochimique traitera d'abord de la place de ces enzymes dans les voies métaboliques, puis des trois enzymes ayant fait l'objet de cette étude.

I - Les voies de la glycolyse .

Le glucose se transforme au cours de tout processus métabolique en glucose-6-Phosphate. A partir de ce produit, qui constitue une plaque tournante, formée par l'intermédiaire d'un enzyme l'hexokinase, 3 opportunités sont ouvertes :

a - La voie de la glycolyse directe d'EMBDEN-MEYERHOF :

Celle-ci, après des dégradations successives, va aboutir à la formation d'acide pyruvique, puis d'acide lactique. Ce dernier corps est le terme normal de la glycolyse anaérobie. Dans des conditions aérobies, l'acide lactique se transforme en acide pyruvique sous l'influence d'un enzyme la deshydrogénase lactique (LDH). L'acide pyruvique va être dégradée à son tour par l'intermédiaire du cycle de Krebs, et former ainsi des liaisons phosphates riches en énergie, sous forme d'ATP et de créatine-phosphate.

b - Le cycle des pentoses ou shunt des hexoses-monophosphates :

De connaissance plus récente, cette voie de la glycolyse jouerait un rôle important dans la formation des acides nucléiques. Les enzymes qui catalysent les réactions de ce cycle, ont pour co-enzyme, le TPN quand il s'agit de deshydrogénases.

c - La 3e voie qui s'ouvre à partir du Glucose-6-Phosphate est la glycogéno-formation .

2 - Le cycle de Krebs ou cycle de l'acide citrique :

C'est la voie normale d'aboutissement de la dégradation métabolique aérobie, des composés organo-biologiques.

L'acide pyruvique, aboutissant normal de toutes ces voies, va pénétrer dans le cycle de Krebs, en s'unissant au co-enzyme A pour former l'acétyl-co-enzyme A, qui lui-même va réagir avec l'acide oxalo-acétique pour former l'acide citrique.

La dégradation par l'intermédiaire du cycle de Krebs produit du CO_2 et des ions H^+. Ces derniers sont captés par le DPN, co-enzyme des deshydrogénases du cycle de Krebs, et entrent ainsi dans la chaîne trans-porteuse d'électrons.

3 - La chaine de transport d'électrons, ou chaine d'oxydo-réduction.

Elle permet le transport des ions H+ ou des électrons libérés par les déshydrogénases au cours de la dégradation des métabolites.

Elle est composés de flavo-protéines qui, agissant comme co-enzyme ont des propriétés oxydo-réductrices.

Les Ions H+ vont en fin de chaine s'unir avec l'oxygène fourni par la respiration et former ainsi de l'eau.

Nous reportons aux schémas n° 1 et 2, qui montrent la séquence des faits la plus communément admise à ce jour.

4 - La phosphorylation oxydative :

C'est la formation de liaisons phosphates riches en énergie, sous forme d'ATP et de créatine phosphate.

L'ATP est formé par la liaison d'ADP et de phosphate inorganique. La formation de cette liaison riche en énergie est sous la dépendance de la chaine d'oxydo-réduction, et de la présence de DPNH.

L'oxydation du DPNH par les mitochondries provoque la formation de 3 molécules d'ATP par molécule de DPNH ou atome d'oxygène consommé.

La glycolyse est donc énergo-formatrice, dans la mesure où elle assure la continuité de la formation de co-enzyme réduit.

Le mécanisme par lequel la chaine d'oxydo-réduction est couplée à la phosphorylation n'est pas connu. Les études de CHANCE, LEHNINGER et LARDY, situent la formation d'ATP aux 3 niveaux suivants de la chaine respiratoire :

a - transport de DPNH vers sa flavoprotéine.

b - oxydation du cytochrome b par le cytochrome c.

c - oxydation du cytochrome c par le cytochrome oxydase.

L'énergie emmagasinée sous forme d'ATP, va être libérée suivant les besoins par hydrolyse de l'ATP, qui va donner l'ADP et du phosphate, sous l'influence d'un enzyme, l'adénosine tri-phosphatase ou ATPase.

5 - Caractéristiques principales des enzymes faisant l'objet de cette étude :

A - Les Diaphorases .

On distingue 2 diaphorases :

- la DPN (ou NAD diaphorase)
- la TPN (ou NADP diaphorase)

Il s'agit d'enzymes qui catalysent l'oxydation respectivement :

- du DPN réduit et du TPN réduit

Il s'agit d'éléments importants de la chaine d'oxydo-réduction. Leur absence ou leur diminution quantitative peut entraîner un arrêt ou une diminution du métabolisme oxydatif, donc de la phosphorylation oxydative.

Leur présence peut être interpréter de la façon suivante :

- La DPND : nous avons vu que la DPN agit comme co-enzyme de nombreuses deshydrogénases (voir tableau n° 1)
- du cycle de Krebs,
- de la glycolyse directe, en particulier pour la deshydrogénase lactique.

Nous avons vu également, que le DPNH était un des éléments principaux de la phosphorylation oxydative.
La présence de DPND témoigne donc du bon fonctionnement de la chaine d'oxydo-réduction, dont elle est un des éléments, mais aussi, de la présence et de l'état du cycle de Krebs, de la glycolyse directe et de la phosphorylation oxydative. Il s'agit en conséquence d'un élément très bien représentatif du métabolisme oxydatif dans son ensemble.

- La TPND : nous avons vu que le TPN agit comme co-enzyme des déshydrogénases du cycle des pentoses.
Cet enzyme est donc représentatif, de la chaine d'oxydo-réduction et du cycle des pentoses.

B - La Succinique déshydrogénase :

- Il s'agit d'un enzyme du cycle de Krebs qui catalyse la transformation de l'acide succinique en acide fumarique.

- La caractéristique principale de cet enzyme est qu'il fonctionne sans co-enzyme. L'accepteur d'hydrogène est probablement le cytochrome Q.

- Cet enzyme est bien représentatif du cycle de Krebs.

oOo

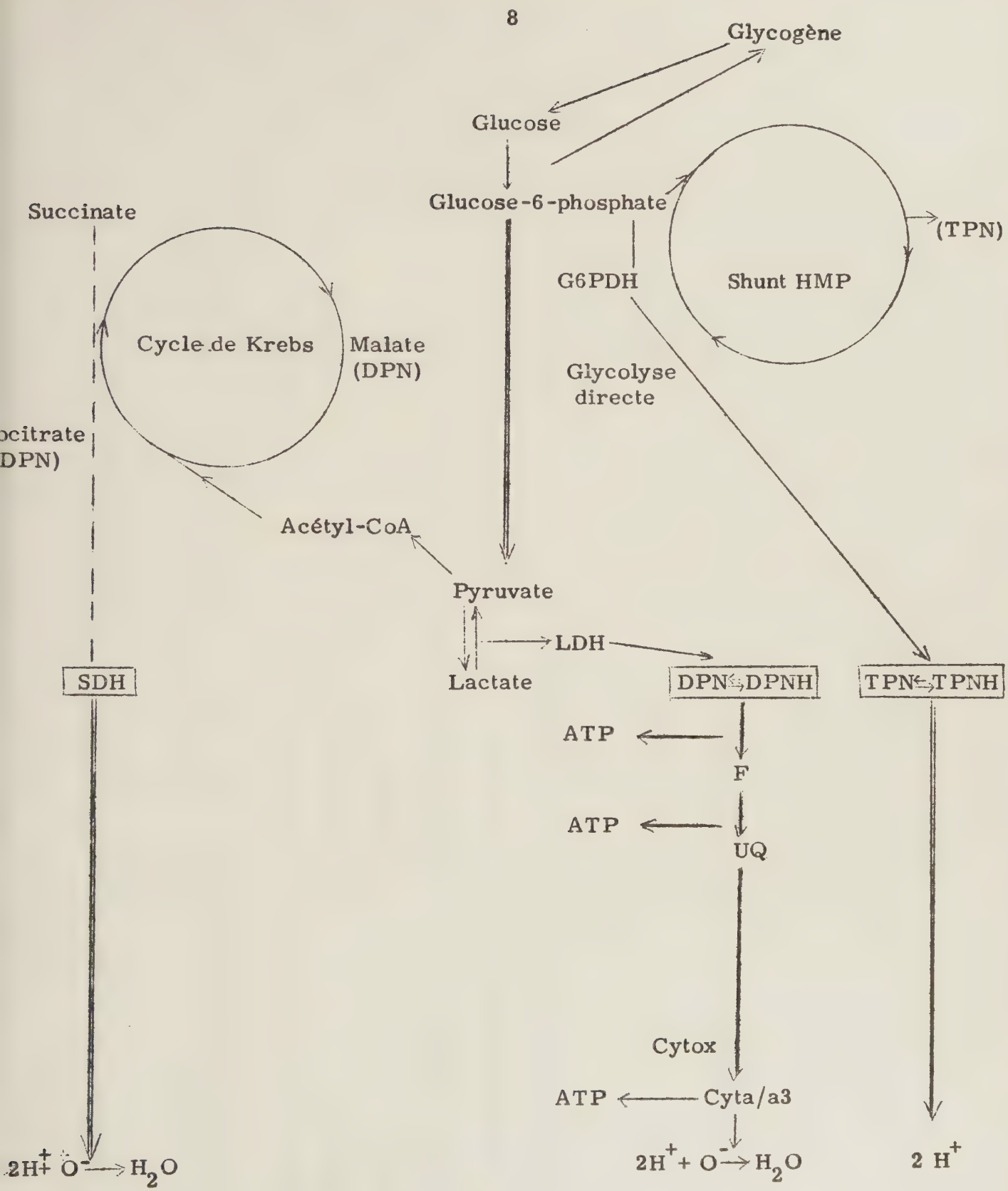


Schéma récapitulatif général du métabolisme oxydatif

Schéma n° 1

Quelques déshydrogénases employant les pyridines nucléotides comme coenzyme

SUBSTRATS	PRODUIT	COENZYME
Ethanol	Acétaldéhyde	DPN
Malate	Oxaloacétate	DPN
Lactate	Pyruvate	DPN
α-Glycérophosphate	Phosphohydroxyacétone	DPN
β - Hydroxybutyrate	Acétoacétate	DPN
Uridine-diphospho-glucose	Uridine diphospho-acide-gluronique	DPN
Glutamate	α céto-glutarate	DPN ou TPN
Glucose-6-phosphate	6-phosphogluconate	TPN

Tableau n° 1

2 e PARTIE

TECHNOLOGIE DE L'HISTOCHIMIE DES DESHYDROGENASE

C'est volontairement , que nous avons étoffé cette partie proprement technique, car la méthodologie de l'histochimie est encore mal connue, et donne souvent lieu à des commentaires erronés, dus à une information sommaire.

- Dans un premier chapitre, nous exposons en détail les techniques que nous avons employées pour mettre en évidence les deux diaphorases et la déshydrogénase succinique.

- Dans un deuxième chapitre, nous traitons de l'histochimie des déshydrogénases :

  . des caractères des sels de tétrazolium tout d'abord, qui sont les indicateurs de ces enzymes ;

  . du déroulement des différentes phases de cette mise en évidence, ensuite,

  . pour terminer par une étude critique de ces réactions.

oOo

CHAPITRE 1

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL

Pour les études anatomo-chimiques, nous avons disposé de 4 cerveaux, prélevés, de 10 à 17 heures après la mort. Les sujets, conservés en chambre froide, étaient âgés de 52 à 67 ans ; leur décès pouvait être attribué à des causes extra-neurologiques. Les cerveaux étaient normaux à la coupe.

Nous avons prélevé à chaque fois le tronc cérébral, à l'exclusion du cervelet, et l'avons découpé en blocs de 1 cm d'épaisseur environ, avant de le plonger dans le fixateur.

Nous avons également prélevés des échantillons corticaux avec la substance blanche sous-jacente.

Pour les études cyto-chimiques de matériel pathologique, nous avons disposés :

- d'un cerveau de sujet âgé de 57 ans, dont le décès a été attribué à une anémie achrestique d'étiologie inconnue.
  A la coupe, le cerveau était normal, sauf dans l'espace sous-arachnoïdien qui avait un aspect opalescent.
  Histologiquement, on notait des dépôts d'allure fibrineuse dans l'espace sous-arachnoïdien. Ces dépôt avaient les caractères histo-chimiques de la substance amyloïde.

Les préparations histo-enzymologiques, nous ont permis de montrer la présence de nombreuses plaques séniles, dans le cortex cingulaire. Il s'agissait probablement d'une amylofdose cérébro-méningée.

- d'un cerveau de sujet âgé de 53 ans, décédé d'une hémorragie intra-ponto-pédonculaire droite accompagnée d'une hémorragie méningée, d'étiologie vasculaire probable.

- d'un cerveau de sujet âgé de 32 ans, décédé d'une hémorragie intra-frontale droite massive, associée à une hémorragie méningée. La cause en était une leucémie aiguë.

Ces cerveaux ont été prélevés de 12 à 15 heures après le décès.

METHODES

I - Fixation :

Pour la mise en évidence de SDH et de TPND, après lavage au sérum salé, nous avons coupé immédiatement, à congélation sans fixer. Pour ces réactions, la fixation, a toujours été faite après incubation.

Pour DPND, après lavage au sérum salé, nous avons mis nos bloc à fixer dans du formol neutre selon la formule de LILLIE, ou du formol-calcium selon la formule de BAKER, à une température de 4° pendant 24 à 72 heures.

2 - Coupe =

Nous avons employer le grand microtome à congélation Leitz 1310, au CO2, qui permet de congeler la pièce et de refroidir également le couteau.

Nous avons fait des coupes de 50 microns pour SDH et de 30 microns pour les diaphorases.

Aussitôt la coupe faite, nous la laissons se dérouler dans un bain d'eau distillée à température ambiante (10 à 20 secondes). Puis nous la plongeons dans le milieu d'incubation.

3 - L'incubation :

Le milieu d'incubation dont nous verrons la composition plus loin, est versé dans des verres de montre pour les grandes coupes, et dans des cupules en faïence pour les petites coupes.

Les récipients sont alors portés à l'étuve à 37°. L'incubation va durer 2 heures pour SDH, 1 heure pour les autres enzymes.

- A la fin de l'incubation, les coupes sont transférées dans un bain de formol à 10 %, afin d'arrêter la réaction.

- Quand du tissu frais a été employé, une fixation de 1 heure dans ce même formol est alors pratiquée.

4 - Le montage :

Les coupes sont transférées dans un bain d'eau ordinaire à température ambiante, puis montée entre lame et lamelle , à l'aide d'un milieu de montage aqueux (Univert mounting media).

COMPOSITION DES MILIEUX D'INCUBATION.

1 - Pour la mise en évidence de DPND .

- solution de DPNH à 1 mg/ml préparée avant utilisation : 10 ml
- solution de Nitro-BT à 2 mg/ml tamponnée à pH 7.4 : 12 ml
- tampon phosphate à 0,2 M pH 7.4 : 5 ml
- sérum salé isotonique : 4 ml

pH final de la solution ajusté à 7.4.

2 - Pour la mise en évidence de TPND :

- solution de TPNH à 2 mg/ml, préparée avant utilisation : 2 ml
- solution de Nitro BT à 2 mg/ml : 4 ml
- tampon phosphate à 0,2 M pH 7.4 : 2 ml

- sérum salé isotonique : 1 ml
- Versène : 6 mg/ml : 1 ml

pH final de la solution ajusté à 7.4.

3 - Pour la mise en évidence de SDH :

- Succinate de Sodium solution à 0,2 M : 5 ml
- Tampon phosphate à 0,2 M pH 7,4 : 5 ml
- Solution de Nitro BT à 2 mg/ml : 5 ml

pH final de la solution ajusté à 7.4

Ces méthodes sont inspirées de :

- NACHLAS et al : I957 pour SDH
- SCARPELLI, HESS et PEARSE : I959, pour les diaphorases.

Des coupes témoins ont été incubées sans substrat, en présence du Nitro-BT, à pH 7.4 , sans que l'on obtienne la moindre réaction.

TECHNIQUE D'INCUBATION EN BLOC

Pour les études cytochimiques, afin de préserver la finesse des détails structuraux, nous avons modifiés nos procédures d'incubation.

Nous avons taillé les prélèvements en petits blocs de 1 mm d'épaisseur, lavé ceux-ci au sérum salé, puis mis directement le bloc dans le milieu d'incubation.

Cette dernière a été faite de deux manières :

- pendant 24 heures à 4°.
- pendant 3 heures à 37°.

Cette seconde modalité a donné les meilleurs résultats.

Après incubation, les blocs sont transférés dans du formol à 10 %, fixés 24 heures, puis inclus en paraffine. Des coupes de I5 microns sont pratiquées, une contre-coloration au vert de méthyl ou au chlorhydrate de Para-

rosaniline est effectuée pour mettre en évidence les noyaux. La préparation est enfin montée entre lame et lamelle, au baume du Canada.

Cette technique présente un inconvénient majeur : le nitro-BT pénètre très peu, aussi le colorant est-il très mal réparti. On peut pallier à cette difficulté, en coupant des blocs de 0,3 mm d'épaisseur et en incubant à avec une agitation constante.

oOo

CHAPITRE 2

L'HISTOCHIMIE DES DESHYDROGENASES

Le but de l'histoenzymologie, est de localiser les activités d'un enzyme ou d'un groupe d'enzymes spécifiques, au niveau des divers éléments formant un tissu intact.

L'histochimie est donc qualitative, mais, un raffinement supplémentaire des techniques peut la rendre quantitative, c'est-à-dire lui permettre de mesurer l'activité enzymatique.

Ces techniques ont un intérêt capital, car elles permettent de faire la relation entre les aspects architecturaux et les connaissances physiologiques et pour l'histopathologie, entre la chimio-architectonie normale et les modifications pathologiques.

En fait, les données en sont extrêmement complexes, et les diverses étapes de la réaction histochimique doivent être connues et soumises à une étude critique sévère, car des interprétations erronées sont souvent déduites de la méconnaissance des phénomènes physico-chimiques des réactions étudiées.

Disons simplement, que l'histochimiste, à la différence du biochimiste, est concerné essentiellement par la mise en évidence des enzymes présents dans les tissus à l'état insoluble, ou rendus insolubles, et dont l'activité peut être démontrée par la formation d'un précipité dense (GLENNER 1965).

Le principe de la mise en évidence d'un enzyme sera donc : d'incuber le tissu étudié dans un milieu contenant :

- le substrat dont l'enzyme doit permettre la conversion
- et un indicateur colorant, qui n'agit que sur le produit de la réaction enzymatique.

MISE EN EVIDENCE HISTOCHIMIQUE DES DESHYDROGENASES.

Nous avons vu plus haut, le rôle de ces enzymes.

Leur mise en évidence a été rendue possible par l'emploi d'indicateurs, les sels de tétrasolium, qui fonctionnent oomme accepteurs d'électrons et dont la réduction donne une substance colorée, les formazans.

Si nous prenons comme exemple le DPN réduit ou DPNH, la présence de sa diaphorase, l'oxyde en DPN + H. L'ion H+ réduit le sel de tétrazolium qui se transforme en formazan qui précipite. L'endroit où s'est déposé le formazan indique la localisation de l'activité enzymatique recherchée, en l'occurence, la DPN Diaphorase.

I - Les sels de Tétrazolium et les Formazans.

Nous renvoyons aux revues de RIED (1952), CHERONIS et STEIN (1956), PADR (I959) et JAMBOR (1960), pour ce qui concerne la synthèse et la biochimie des sels de tétrazolium et de leurs formazans.

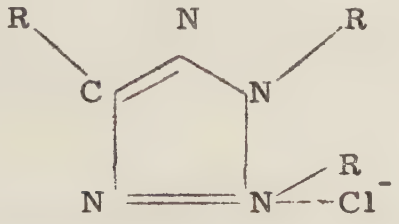
Leur propriété de former un produit colorant après réduction, a été appliquée en biologie dans les années 1940, alors que leur découverte remonte à 1892 par Von PECHMANN et BAMBERGER (BURSTONE I962).

Ce sont les chercheurs allemands qui ont été les pionniers en ce domaine :

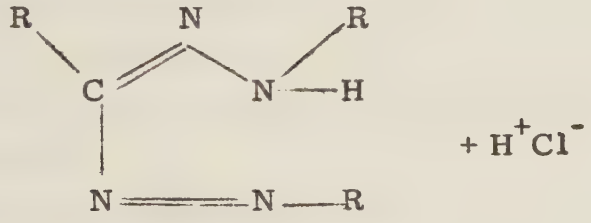
- en biologie végétale LAKON , I942.
- en pathologie : STRAUSS , I948, ANTOPOL , I950, Van HAYEK, I950.

A - Structure des sels de Tétrazolium.

- Elle est hétérocyclique contenant I atome de carbone et 4 atomes de nitrogène dont l'un est quaternaire.



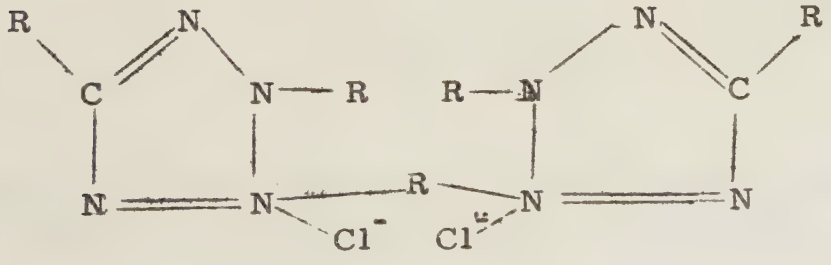
- La réduction du sel de tétrazolium, va rompre le cycle et donner le formazan :



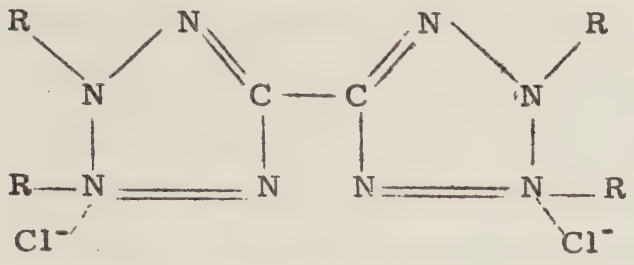
B - Classification des sels de tétrazolium :

On distingue :

- les monotétrazolès dont la formule est donnée plus haut.
- les ditétrazoles par liaison diazotée :



- les ditétrazoles par liaison bicarbonée



Seules les 2 premières formes sont utilisées en biologie (BURSTONE 1962) .Parmi les sels de tétrazolium couramment utilisés en histochimie, citons :

- Monotétrazoles :
  - le iodo-nitro-tétrazolium ou INT
  - le tétrazolium violet
  - le MTT (très employé par PEARSE et les auteurs qui s'en inspirent).
- Ditétrazoles :
  - chlorure de néotétrazolium
  - chlorure de tétrazolium bleu
  - chlorure de nitro-néotétrazolium
  - nitro-blue-tétrazolium ou nitro-BT.

Ce dernier est probablement le plus employé, et c'est ce produit qui a servi pour nos travaux.

Un autre composé intéressant, est le tétra-nitro-blue-tétrazolium, (TNBT) dont le formazan a une structure cristalline très fine.

C - Eléments permettant d'apprécier la valeur d'un sel de tétrazolium, pour son emploi en biologie, et en histologie (BARKA I962).

a - Solubilité :

- Le sel de tétrazolium, doit être assez soluble pour être utilisé si besoin est, à sa concentration optimale.

b - Potentiel d'oxydo-réduction.

- Une des principales caractéristiques d'un sel de tétrazolium, est sa plus ou moins grande facilité à être réduit.
- Elle détermine son aptitude à l'emploi histochimique.
- Cette caractéristique, est le potentiel d'oxydo-réduction, synonyme de la capacité oxydative exprimée en volts.
- Les els de tétrazolium couramment utilisés peuvent être classés dans l'ordre suivant de potentiel d'oxydo-réduction croissant : TTC, NT, BT, MTT, INT, Nitro BT (KARMARKAR et al. 1960)

c - Inhibition enzymatique :

- La toxicité de ces éléments pour les enzymes, n'est pas exclue. C'est un facteur limitant dans l'utilisation de ces produits, in vivo, sur culture de tissus par exemple.

d - Pénétration :

- C'est un facteur important, surtout si les études doivent être accomplies, sur des cellules et des membranes intactes.
- Elle dépend des caractères physico-chimiques du sel de tétrazolium, et du tissu étudié.

e - Propriété du formazan :

-Elles sont très importantes à apprécier. D'elles, dépendra la qualité de la mise en évidence histochimique.

α - Structure du dépôt de formazan :

- seuls les sels de tétrazolium dont la réduction produit un formazan amorphe ou micro-critallin, peuvent être utilisés en histochimie.
- La formation de cristaux peut être prévenue par une chélation métallique simultanée, si on emploie le MTT (PEARSE).

β - Solubilité :

- Généralement insolubles dans l'eau, de nombreux formazans, le sont dans les lipides, ce qui peut entrainer des interprétations erronées.
- Les sels de Tétrazolinm modernes (Nitro-BT) ne sont pas solubles dans les lipides, quoique des dépositions de formazans peuvent apparaitre sur les jonctions lipido-acqueuses -(NOVIKOFF et al. I96I)

γ - Substantivité :

- C'est un caractère mal défini des formazans qui indique leur degré d'affinité pour les protéines.
- Un fort degré de substantivité, accroit la finesse de la localisation.

II - Etapes de la démonstration histochimique des deshydrogénases.

Nous allons traiter maintenant des différentes étapes de la manipulation de la pièce histologique à étudier, en nous référant essentiellement à des travaux sur le système nerveux.

1 - Choix de la pièce à examiner :

- Il est évidemment recommandable, de travailler sur des prélèvements frais, si l'on veut faire une analyse chimique.
- Mais alors que ceci est aisé quand on expérimente sur l'animal, plus délicat, mais possible si l'on travaille sur biopsie humaine, cela devient impossible, si l'on veut faire des études approfondies sur un organe entier humain.
- Il faut donc travailler sur des pièces d'autopsie et s'assurer que l'autolyse post-mortem, n'affecte pas rapidement la qualité et la localisation de l'activité enzymatique, et permet des études sur des organes prélevés dans des délais possible.

- Des études expérimentales sur le cerveau, ont montré que l'histochimiste pouvait disposer d'un délai compatible avec une existence normale. (SMITH et al. I956, I957, ROBINS et al. I958, FRIEDE et al. I963, I965).

- Après le décès, un certain nombre d'enzymes, en particulier oxydatifs, conservent une activité importante. FRIEDE fixe comme délai de prélèvement 6 à 12 heures. Pour notre part, nous avons obtenu des résultats satisfaisants sur des cerveaux prélevés 20 heures après le décès, sur des cadavres conservés en chambre froide, par temps froid.

2 - La fixation :

- En général , les manuels d'histochimie (PEARSE, BARKA, BURSTONE) recommandent l'incubation de coupes non fixées, congelées, montées sur lame.

- L'apparition des microtomes à congélation modernes et des cryostats, en a rendu la pratique relativement aisée.

- De telles techniques, cependant, posent une série de difficultés pratiques et théoriques :

  - pratiques : l'étude histo-enzymologique complète d'un cerveau, nécessite de nombreuses manipulations et un laps de temps plus grand que pour une simple biopsie.

  - théoriques, des deux points de vue histologiques et cytologiques, l'absence de fixation préalable ne donne pas la même finesse de détail.
  En outre, la congélation et le dégel rapide des pièces, provoquent des altérations des organelles intra-cytoplasmiques, pouvant donner des artéfacts grossiers.

- Dans ces conditions, pour l'étude des pièces d'autopsies volumineuses, pour obtenir également une amélioration des images cytologiques et une

meilleure préservation des structures intra-cytoplasmiques, une fixation préalable est préférable. Celle-ci est de rigueur si les observations doivent être faite au microscope électronique.

- Le problème qui se pose alors, est de savoir si l'activité enzymatique n'est pas détruite ou fortement diminuée par un séjour dans le fixateur.

- Des études rigoureuses en ce sens ont été entreprises par plusieurs auteurs : LAZARUS et al. (1962) SAMORAJSKI (1960) FRIEDE et al.(1963) SABATINI et al. (1963) qui concluent que DPND et TPND ne sont que peu affectés par un séjour de 24 heures dans le formol neutre, alors que SDH se perd rapidement. Par contre de nouveaux aldéhydes de synthèses, pouvant être employés comme fixateurs, permettent une excellente conservation de SDH (SABATINI et al).

- Nos différentes expériences nous ont permis d'aboutir à des résultats identiques. En particulier, après un séjour de 72 heures des pièces dans du formol neutre à 4°, nous avons obtenu d'excellentes démonstrations de la présence de DPND .

3 - La coupe :

- Afin d'obtenir des coupes immédiatement prêtes à l'incubation, soit sur tissu frais, soit sur tissu fixé, il faut employer un microtome à congélation ou un cryostat. En effet, le séjour des pièces dans un bain de paraffine à 54° entraine une destruction des enzymes oxydatifs.

- Plusieurs données doivent être étudiées, pour le choix de l'instrument à employer pour la coupe:

  - taille du prélèvement : les études topographiques sur tissu nerveux doivent faire choisir le microtome à congélation, car le cryostat ne permet de travailler que sur des petits prélèvements.

- épaisseur de la coupe :

  - plus la coupe est mince, plus la perte d'enzyme est importante.
  - FRIEDE et al. (1963) ont montré qu'une épaisseur de 30 à 60 microns était nécessaire pour une étude topographique sérieuse. de la répartition des enzymes oxydatifs dans le tissu cérébral.
  - C'est pourquoi, pour de tels travaux, il faut utiliser le microtome à congélation de préférence au cryostat, qui ne peut donner des coupes d'une épaisseur supérieure à I6 microns.

4 - L'incubation :

Composition des milieux d'incubation :

- 2 éléments essentiels sont toujours présents, quelle que soit la déshydrogénase recherchée :

  - le sel de tétrazolium, et le tampon, dont le pH varie selon les auteurs entre 7;0 et 7.8.

  - Nous avons préféré le Nitro-BT au MTT pour deux raisons :

    - la solubilité du second dans les lipides, est génératrice d'erreur grossière,
    - malgré les affirmations de PEARSE, NOVIKOFF a montré que la déposition granulaire qui est une de ses caractèristiques, se faisait en dehors des mitochondries, dont il n'était pas de ce fait un indicateur correct.

Quant aux tampons, la préférence va du tampon tris au tampon phosphate selon les auteurs.

- Les substrats :

A - Les diaphorases :

- FARBER et ses collaborateurs (FARBER et LOUVIERE I956) STERNBERG et al. I956, FARBER et BUEDING I956), ont mis au point des méthodes ingénieuses de démonstration des 2 diaphorases.

- Ils utilisent :

  - une déshydrogénase exogène, associée à son substrat et à son co-enzyme, dans le but de provoquer la formation de co-enzyme réduit, celui-ci étant oxydé à son tour par sa diaphorase, l'ion H+ ainsi libéré réduisant le sel de tétrazolium.

  - C'est le BT (tétrazolium-bleu) et le NT (néo-tétrazolium) qui étaient alors employés.

  - En employant les mêmes principes, légèrement modifiés et le Ntro-BT , NACHLAS et al. (1957-58), ont obtenu une amélioration de la méthode.

- SCARPELLI, HESS, et PEARSE (1958) proposent une technique de conception et de réalisation plus simple. C'est le co-enzyme réduit qui est employé comme substrat (DPNH et TPNH). Le Ntro-BT et le MTT peuvent être employés indifféremment (BURSTONE).

- Les techniques basées sur ces deux principes différents donnent des résultats identiques (FRIEDE et al. 1963).

B - Succinate déshydrogénase :

- Un seul substrat est recommandé par les différents auteurs : le succinate de sodium (ROSA et VELARDO 1954, NACHLAS et al. 1957).

III - Etude critique des méthodes histochimiques démontrant les diaphorases

Une telle étude, nous le répétons, doit être des plus minutieuses, les différents éléments entrant en jeu dans la réaction, analysés avec le maximum de précision. Il faut également, tenir compte des inconnues encore nombreuses.

Nous devons tout d'abord étudier le niveau auquel s'effectue la réaction histochimique, et pour ce faire, nous reportons au schéma de la page suivante qui montre la séquence des évènements au niveau de la mitochondrie. Nous reportons également, à l'article de GLENNER, à qui ce schéma a été emprunté, pour ses sources (GLENNER I965) . Signalons , que la séquence des réactions au niveau microsomale est inconnue.

Ce schéma est un essai de synthèse de données connues et vérifiées, et de présomptions non encore démontrées. Les 3 éléments suivants ne sont que des suppositions :

- le co-enzyme Q est situé dans la chaine, entre les cytochromes b et c,
- le co-enzyme Q est le lieu de convergence de DPNH oxydase et de succinate oxydase.
- la réduction du sel de tétrazolium non inhibée par l'amytal apparait au niveau de la flavoprotéine.

Nous allons maintenant passer en revue, les facteurs pouvant affecter la réaction histochimique :

A - Facteurs affectant la localisation de la réaction histochimique :

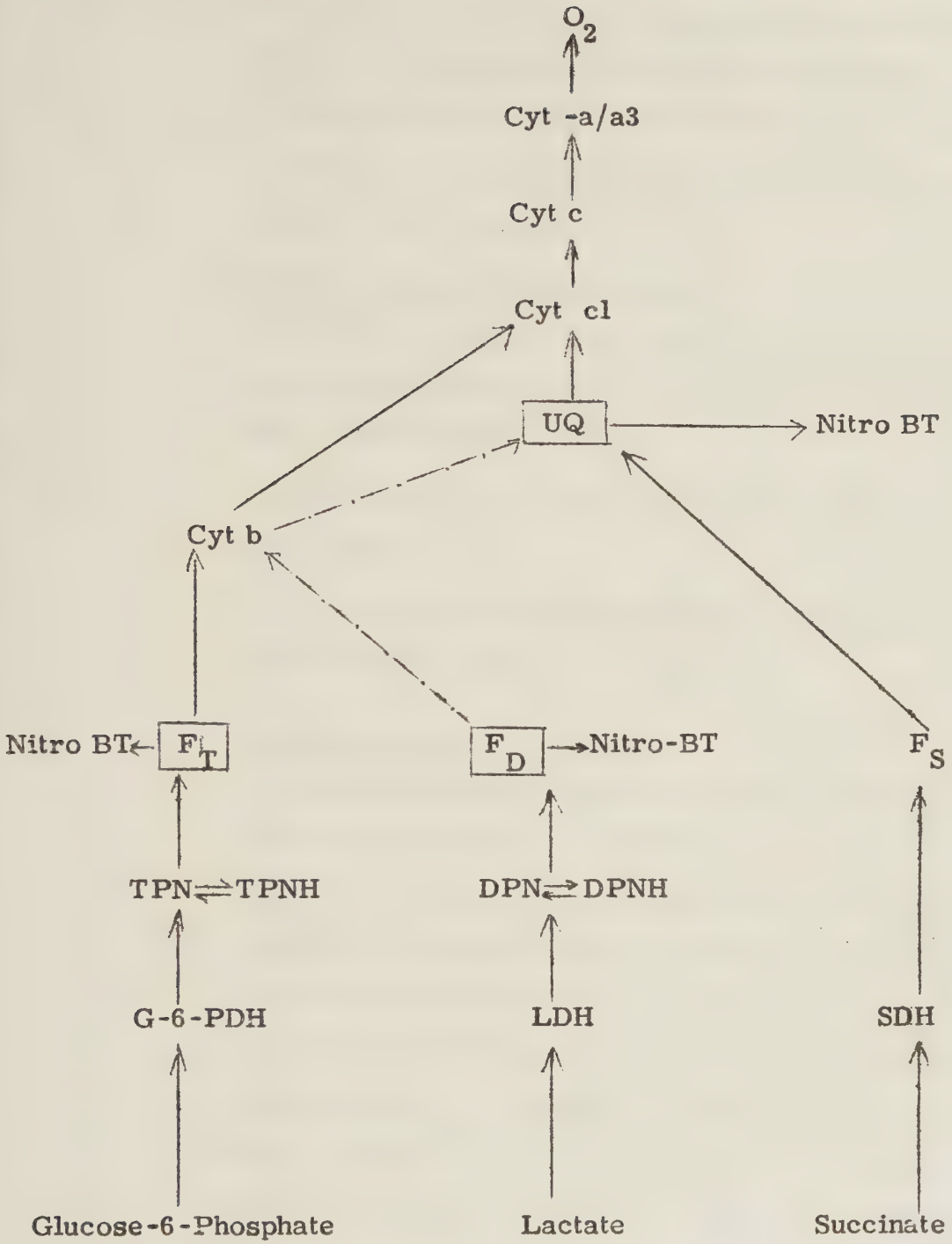
1 - Causes d'erreur liées aux sels de tétrazolium :

a - Solubilité dans les lipides :

De nombreux formazans sont solubles dans les lipides, et ce facteur peut affecter considérablement la précision de la localisation. Nous avons vu que le MTT de PEARSE présente ce fâcheux inconvénient à un fort degré.

b - La substantivité :

C'est, répétons-le, le degré d'affinité du formazan pour les protéines.



Système de transport d'électron de la mitochondrie avec la localisation de la réduction du Nitro-BT d'après GLENNER , 1965.

Schéma n° 2

- Un organe inhomogène, comme le cerveau, ou le rein, peut avoir des zones de substantivité différentes, qui peuvent affecter la validité de la réaction histochimique et de sa localisation.

- FRIEDE et al. (1963) affirment qu'il n'en est rien mais n'apportent pas de preuves.

c - L'effet "Nothing-déshydrogénase".

-Il s'agit d'un effet qui se produit à pH alcalin et qui consiste en la réduction non enzymatique du tétrazole en présence de co-enzyme, mais sans substrat.

- ZIMMERMANN et PEARSE (1959) ont attiré l'attention sur ce phénomène .

- En fait, aux pH employés habituellement (entre 7.0 et 7.8), il est négligeable (FRIEDE et al. 1963).

d - L'aspect du dépôt de formazan :

- Nous avons signalé déjà que la qualité essentielle d'un formazan, doit être sa déposition, amorphe ou micro-cristalline.

- Les monotétrazoles, dont le MTT déposent sous la forme de cristaux et la post-chélation au cobalt est déstinée à prévenir cet inconvénient. PEARSE et al. (1958-59-60) affirment démontrer ainsi la localisation intra-mitochondriale de l'enzyme.

- NOVIKOFF et al (1961) ont évalué avec soin ces affirmations, et ont conclu que l'utilisation de MTT et de Cobalt, ne donne pas de localisation intra-cellulaire et intra-mitochondriale fidèle.

2 - Causes d'erreur liées aux caractéristiques physico-chimiques de l'enzyme étudié.

a - La solubilité :

- C'est la cause principale d'erreur dans les démonstrations histo-enzymologiques et elle n'a pas été encore évaluée correctemen

- En effet de nombreux enzymes existent à l'état soluble dans la cellules ou sont dissociés et rendus solubles par les facteurs physiques variés entrant en jeu dans la technique de démonstration (TRUMP et al. I964).

- C'est le cas en particulier , de la deshydrogénase lactique, et de nombreuses déshydrogénases dont l'action est liée à un co-enzyme.

- NOVIKOFF et al. (196I), BURSTONE (1962), LEHRER et al. (I965) émettent des doutes quant à la validité de la localisation histochimique de tels enzymes, et pensent que l'activité mise en évidence, est celle de la diaphorase. En particulier, LEHRER comparant les résultats de méthodes qualitatives et quantitatives, pour LDH, a montré que les premières donnaient des localisations erronées.

- Cependant, CASCARANO et ZWEIFACH (I959), pour MDH, Glutamate déshydrogénase, FRIEDE et FLEMING (1963), ont une vue plus optimiste du problème, car ils ont constaté quelques différences entre la localisation de ces enzymes et celle de leur diaphorase.

- Devant de tels doutes, aussi sérieusement argumentés, nous avons des vues conservatrices et restrictives. Nous ne tenons pour sûre que la démonstration des diaphorases et de SDH. C'est pourquoi, nous n'avons étudié que ces dernières.

- Le concept biochimique, qui suppose l'existence d'enzymes cellulaires sous des formes à la fois soluble (lyoenzyme) et insoluble (desmoenzyme) a été réintroduit pour expliquer la perte d'enzyme de la coupe tissulaire dans le milieu d'incubation (NACHLAS et al. I959, HANNIBAL et NACHLAS I959).

- Cette fuite d'enzyme peut-être modifiées par plusieurs facteurs :
  - pH du milieu d'incubation (HANNIBAL et NACHLAS)
  - épaisseur de la coupe (FRIEDE et al. 1963)
- Enfin, l'acuite de la localisation de la réaction, peut être perturbée ou modifiée :
  - par la perte d'un cofacteur ou d'un coenzyme solubilisé,
  - par la solubilisation et la perte d'inhibiteurs enzymatiques normalement présents dans le tissu (BLACKWOOD, MATENKO et MANDL 1962).

b - Immobilisation de l'enzyme.

Afin de réduire la solubilité de l'enzyme, et par conséquent sa diffusion, les histochimistes, ont cherché à la dénaturer par différents procédés : fixation dans les aldéhydes ou l'osmium, dénaturation par l'acétone ou l'alcool, "freezing-drying", "freeze-substitution". De toutes ces méthodes seule la fixation dans les aldéhydes s'est révélée applicable aux déshydrogénases. Nous ne reviendrons pas sur ce problème dont nous avons parlé plus haut.

B - Facteurs affectant la caractérisation de l'enzyme.

1 - Activateurs et inhibiteurs :

- Dans les différentes méthodes proposées, l'usage d'activateurs et d'inhibiteurs est souvent recommandé.
- Mais , on n'a pas vérifié encore :
  - si des résultats erronés n'apparaissent pas
  - si les modificateurs ne changent pas la solubilité de l'enzyme.

2 - L'identification d'un enzyme, histochimiquement, par ses caractéristiques kinétiques est à l'ordre du jour.
La mise au point de telles méthodes, apporterait une rigueur sans faille à la caractérisation des enzymes étudiés.

3 - Caractérisation par le zymogramme.

- Un enzyme spécifique, peut avoir plusieurs variétés moléculaires, ayant la même spécificité pour un substrat donné.

- Les méthodes électrophorétiques, associées aux méthodes histochimiques permettent de différencier les isozymes, et d'apprécier leur distribution.

C - Facteurs affectant la quantitation d'une réaction histoenzymologique.

- Ils sont multiples. C'est pratiquement la somme de tous les facteurs entrant en jeu dans la réaction.

- Les réactions histochimiques telles que nous les pratiquons actuellement, si proches soit-elles des conditions d'exactitude exigées d'un paramètre, ne peuvent avoir la prétention d'être infiniment et également reproductibles. Leur déroulement ne peut s'exprimer en un modèle mathématique, elles ne sont donc pas mesurables.

- De multiples tentatives de "semi-quantitation", ont été proposées par de nombreux auteurs. La première en date est due à COUJARD (1943), pour l'activité phosphatasique. De nombreuses autres méthodes ont suivies, basées sur des principes semblables. Pour les enzymes oxydatifs, FRIEDE et al. (1963) proposent une technique, basée sur des déterminations de densités colorimétriques.

- Tous ces essais, si intéressants soient-ils, ne sont qu'une amélioration des systèmes de gradation subjective, qui ne sont eux-mêmes qu'une manière simple d'exprimer des observations visuelles.

- Nous sommes loin de la valeur des résultats de l'histoenzymologie quantitative, qui elle emploie et exige des critères scientifiquement irréprochables.

- Une récente approche de la question, basée sur des essais de mesures et de reproduction de la kinétique de la réaction histo-enzymatique, ouvre des perspectives très intéressantes qui peuvent dans un proche avenir, améliorer notablement les techniques dont nous disposons.

Pour conclure, malgré la prudence dont-on doit légitimement s'entourer, quand on interprète une lame histo-enzymologique, celle-ci nous apporte néanmoins des renseignements irremplaçables, sur la localisation enzymatique intra-tissulaire et intra-cellulaire, et permet, associée aux techniques d'autres disciplines, d'appréhender un peu mieux les modalités du fonctionnement du système nerveux, et apporte des vues nouvelles et plus dynamiques sur le déroulement des processus pathologiques.

- Ce sont des ébauches allant dans ces deux sens, que nous allons étudier dans les deux parties suivantes de notre travail.

- Des améliorations souhaitables des techniques que nous employons nous permettant de mieux qualifier et de mesurer les activités enzymatiques que nous mettons en évidence, sont actuellement à l'étude (GLENNER et son groupe). Elles sont riches de promesse.

oOo

3e PARTIE

CHIMIO-ARCHITECTONIE DU TISSU CEREBRAL

Notre but initial, était de faire une étude comparative du métabolisme oxydatif de toutes les structures cérébrales.

Mais des retards imprévus d'équipement, nous ont obligé à être plus modestes dans nos entreprises.

Nous ne présenterons dans un premier chapitre que des résultats partiels.

Tout d'abord , quelques données très fragmentaires sur la répartition enzymatique du cortex, puis un travail plus homogène, sur la répartition de l'activité DPND au niveau du tronc cérébral.

Dans un deuxième chapitre, nous exposerons les commentaires que nous inspirent ces observations, en signalant, également, que faute de temps nous n'avons pu faire en détail les corrélations entre ces résultats histochimiques et les données physiologiques.

oOo

CHAPITRE Ier

RESULTATS

Chimio-architectonie oxydative du cortex cérébral et de la substance blanche.

C'est dans ce chapitre que nos résultats sont les plus fragmentaires. Faute de temps, nous n'avons pas pu mener à bien l'étude exhaustive que mérite le sujet du métabolisme oxydatif comparé de tout le cortex cérébral.

Ces résultats ne doivent donc pas donner lieu à des généralisations abusives, ils ne témoignent que d'observations localisées.

Nous avons eu l'occasion d'examiner le cortex moteur bilatéralement sur le cerveau de 4 sujets, et le cortex cingulaire chez deux sujets. Le premier a été choisi comme le type de l'iso-cortex, alors que le second juxtapose iso et allo-cortex.

Les enzymes étudiés ont été SDH, DPND et TPND.

Notre système de graduation a été établi en donnant par convention; le grade 8 à la positivité la plus forte, observée sur une même préparation microscopique, et le grade I à la positivité la plus faible, sur cette même coupe. Les chiffres intermédiaires sont établis subjectivement. Ces gradations ont été refaites plusieurs fois par des observateurs différents, et ce sont les chiffres moyens qui ont été retenus. Ce système n'a en aucune façon, la prétention d'apporter un élément quantitatif. Il ne représente qu'un moyen

simple d'exprimer des observations comparatives, d'intensités variables de colorations.

A - CORTEX MOTEUR

1 - SDH

- Ière couche (moléculaire) : 8
- 2e couche (Ière granulaire) : 7+
- 3e couche (Ière pyramidale) : 7-
- 4e couche (2e granulaire) : 5
- 5e couche (2e pyramidale) : 4+
- 6e couche (polymorphe) : 4
- substance blanche.

La répartition de l'activité enzymatique est diffuse quelle que soit la couche cellulaire envisagée. Au niveau des couches granulaires, le contour des périkaryons neuronaux peut être distingué par la faiblesse relative de la coloration de ceux-ci. Au niveau des souches pyramidales, certaines cellules nerveuses sont plus colorées que le neuropil avoisinant, mais la plupart sont à peine distinguées de leur environnement. Il en est de même pour la couche polymorphe.

2 - DPN

-La gradation des colorations des différentes couches, donne des écarts semblables à ceux de SDH.

- Il existe cependant quelques différences dans l'intensité relative des colorations neuronales. Alors que cellules nerveuses des couches granulaires ont les mêmes caractères quelle que soit la réaction effectuée, les cellules des couches pyramidales avec DPND sont très positives.

3 - TPND

On obtient une répartition identique à celle de DPND.

B - CORTEX CINGULAIRE

1 - Allo-cortex :

- Iere couche (moléculaire) : 8
- 2e couche (cellulaire) : 7

Cette graduation est valable pour les 2 diaphorases, les seules étudiées ici. Les neurones sont très positifs.

2 - Iso-cortex :

Distribution identique à celle du cortex moteur.

oOo

RESULTATS

TRONC CEREBRAL

La réaction pratiquée a été celle mettant en évidence la DPND. La raison de ce choix sera explicitée dans nos commentaires. Le système de gradation est le même que pour le cortex.

Nous avons eu pour but d'établir un gradient métabolique entre les différents noyaux du tronc cérébral, afin d'essayer autant que possible d'établir des corrélations anatomo-fonctionnelles.

Nos résultats sont exposés en 3 tableaux :

1 - Les noyaux des nerfs crâniens

2 - Les noyaux relais.

3 - Les noyaux dont les connections sont inconnues.

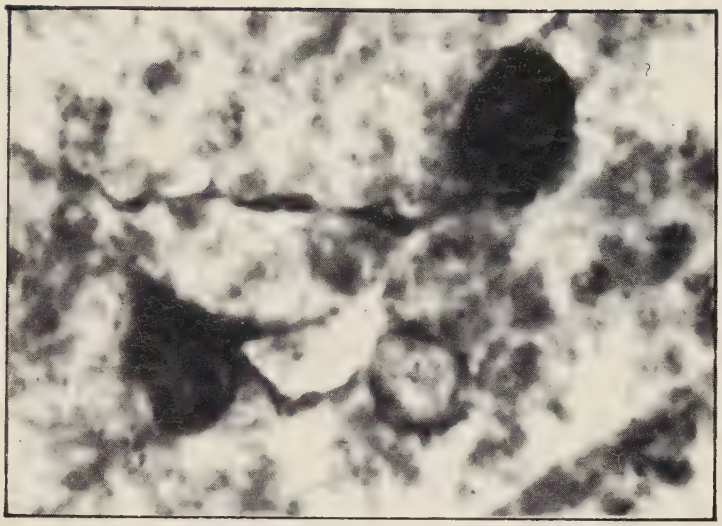
Cette classification et la terminologie employée sont celles de OLZEWSKI et BAXTER (1954). C'est à partir de leur ouvrage que l'identification des noyaux a été effectuée.

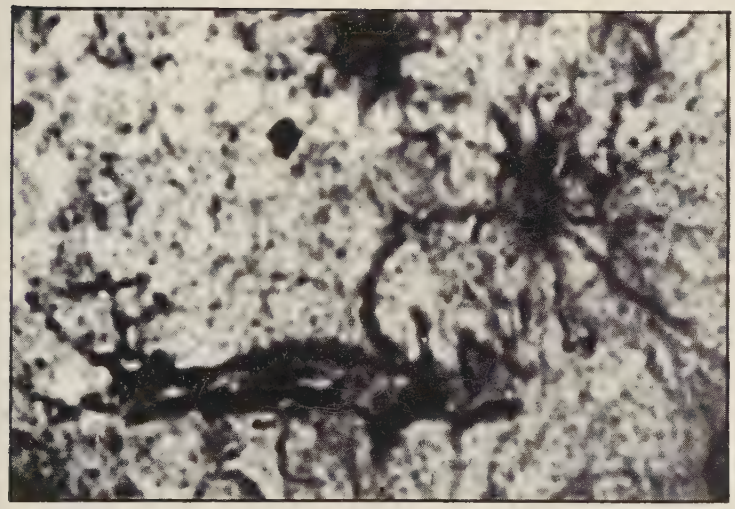
oOo

1 - Oligodendrocytes

Type 3

DPND x 800



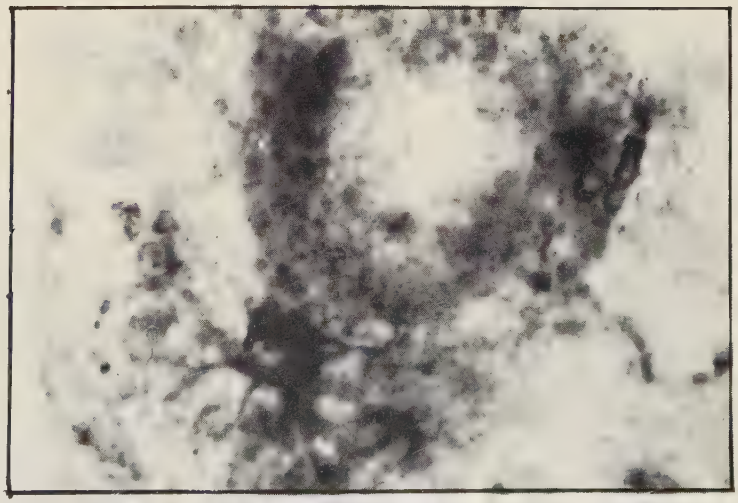


2 - Astrocyte fibrillaire normal

DPND x 600

3 - Astrocyte réactif au pourtour d'une plaque sénile.

DPND x 500.



I - NOYAUX DES NERFS CRANIENS

NOYAUX	GRADE	NEURONE	NEUROPIL
Nucléus nervi hypoglossi	8	8	7
Nucleus supra-spinalis	6+	8	4
Nucleus ambigus	6	7	3
Nucleus dorsalis motorius nervi vagi	7	8	6
Nucleus tractus solitarii	7+	indistincts	7+
Nucleus cochlearis dorsalis	4	6	3
Nucleus cochlearis ventralis	6	8	4
Nucleus vestibularis medialis	5+	6+	5
Nucleus vestibularis lateralis	5+	6+	5
Nucleus vestibularis spinalis	5+	6+	5
Nucleus vestibularis superior	5+	6+	5
Nucleus nervi facialis	6	8	4
Nucleus nervi abducentis	6	8	4
Nucleus tractus spinalis trigeminis caudalis			
- subnucleus zonalis	7	indistincts	7

NOYAUX	GRADE	NEURONE	NEUROPIL
- subnucleus gelatinosus	8	indistincts	8
- subnucleus magnocellularis	3	6	2
Nucleus tractus spinalis trigemini interpolaris	3	3+	3
Nucleus tractus spinalis trigemini oralis	5	indistincts	5+
Nucleus nervi trigemini sensibilis principalis	6	6	5
Nucleus nervi trigemini motorius	6	7	4
Nucleus nervi trigemini mesancephalicus	7	8	2
Nucleus nervi trochlearis	7	8	6
Nucleus oculomotorius principalis	6	8	3
Nucleus de Perlia		non identifié	
Nucleus Edinger Westphal	7+	8	7

II - NOYAUX RELAIS

NOYAUX	GRADE	NEURONE	NEUROPIL
Nucleus gracilis	8	8	8
Nucleus cruneatus lateralis	8	indistincts	8
Nucleus cuneatus medialis	7	8	7
Nucleus medullae oblongatae lateralis	2+	7	2+
Nucleus olivariis inferior	8	8+	8
Nucleus trapezoidalis	2+	7	2+
Nucleus olivariis superior	7	8	7
Nucleus arcuatus	8	8+	8
Nucleus pararaphales	8	8+	8
Nucleus corporis pontobulbaris	8	8+	8
Nucleus colliculi inferioris	3	0	3
Nucleus paramedianus dorsalis	8	8+	8
Griseum pontis	8	8+	8
Nucleus interpeduncularis	6	8+	I
Nucleus substantiae nigrae			
- subnucleus reticularis	6	6+	6
- subnucleus compactus pars α	7	7+	7
pars β	3	6	3
pars γ	5	3	5
Nucleus ruber	4	6	4
Colliculus superior	6	Non identifiés	6+

III - NOYAUX DE CONNECTIONS INCONNUES

NOYAUX	GRADE	NEURON E	NEURCPIL
Area postrema	5		
Nucleus controterminalis	7	8	7
Nucleus intercalatus	3	6	I
Nucleus de Roller	2	0	2
Nucleus interfascicularis hypoglossi	7	0	7
Nucleus praecpositus hypoglossi	6	7	5
Nucleus giganto cellularis	2+	7	2+
Nucleus para giganto cellularis latéralis	2+	7	2+
Nucleus para giganto cellularis dorsalis	2+	7	2+
Nucleus raphae pallidus	2	7	1+
Nucleus raphae obscurus	2	7	1+
Nucleus supra vestibularis	6	7	6
Nucleus ovalis	6	8	6
Nucleus pontis centralis	2+	7	2
Nucleus locus coeruleus	4	7	1-

NOYAUX	GRADE	NEURONE	NEUROPIL
Griseum centrale Pontis Mesencephali	6		
Nucleus papillio formis	2+	7	2
Nucleus centralis superior	4	8	4
Nucleus pontis centralis	2	7	I
Nucleus para brachialis	3	4	3
Nucleus compactus supra fasciculorus	7	Indistincts	7
Nucleus compactus inter-fascicularis	7	indistincts	7
Nucleus inter collicularis	4	5	4
Nucleus supra trochlearis	6	8	4+
Nucleus de Darkscheiwitz	4	indistincts	4
Nucleus interstitialis	2+	7	2+
Nucleus intra-capsularis	6	8	4+
Nucleus cuneiformis	2	7	2
Nucleus paranigralis	7	8	7
Nucleus peripéduncularis	2	7	2

CHAPITRE 2

DISCUSSIONS ET COMMENTAIRES

LE METABOLISME OXYDATIF DU TISSU CEREBRAL.

Ayant entrepris d'étudier le métabolisme oxydatif du tissu cérébral par des méthodes histo-enzymologiques, il nous faut dans un premier temps , démontrer qu'elles constituent un moyen valable de le faire, et que les activités enzymatiques que nous avons démontrées, sont de bons paramètres de ce métabolisme.

Dans ce but, nous exposerons tout d'abord les connaissances acquises dans le domaine de l'étude du métabolisme général et de la respiration du cerveau, puis dans celui de l'étude de la répartition entre les diverses structures du cerveau.

Dans un deuxième temps, nous essayerons de tirer quelques conclusions de nos travaux, en les comparant avec des essais similaires.

I - LA RESPIRATION ET LE METABOLISME GENERAL DU CERVEAU

A - L'utilisation de l'oxygène :

- En 1884, EHRLICH et BRIERGER, découvraient une intense activité réductrice au niveau de la substance grise du cerveau. Celle-ci se manifestait par la réduction du bleu d'alizaine en un composé incolore.

- En 1885, EHRLICH montrait que la substance grise absorbait l'oxygène, et ensuite était le siège d'une "Nadi-réaction".

- En 1906, WINTERSTEIN démontrait que le tissu nerveux pouvait consommer directement de l'oxygène ; cette respiration était augmentée par la stimulation électrique.

- En I924, WARBURG et al. observaient une absorption d'oxygène par des tranches de substance grise.

- Les études portant sur le débit circulatoire ent permis à KETY (I957-I962) de préciser le taux d'utilisation de l'oxygène par le cerveau. Au repos, celui-ci utilise 50 ml d'O2 par minute, soit environ 20 % des besoins basiques du corps.

B - Utilisation du glucose :

- Le glucose est de loin la source principale des substrats des oxydations cérébrales.

- L'utilisation du glucose par le tissu nerveux a été démontrée par HIRSCHBERG et WINTERSTEIN en I9I7. WARBURG en I924, montrait que des tranches de cortex cérébral de rat, en l'absence d'oxygène, convertissait le glucose en acide lactique.

- En I922, MANN et MAGAT montraient que les chiens après hépatectomie, perdaient connaissance du fait de l'hypoglycémie.

- L'étude chez l'homme des différences de concentration artério-veineuses, montre une captation du glucose lors de la traversée cérébrale du flux sanguin (HIMWICH).
Par contre, de tels faits n'ont pu être démontrés pour d'autres substances (KETY I957-I962).

- Les études cliniques, biologiques et électro-encéphalographiques, des états d'hypoglycémie, apportent des démonstrations supplémentaires.

- A l'état normal, le cerveau utilise 5 mg. de glucose par minute pour I00 grammes de cerveau, soit environ 70 mg par minute pour le cerveau humain total (KETY I957, I962).

C - Fonctions de ces phénomènes métaboliques.

- Cette combustion aérobie importante du glucose a évidemment pour but de donner naissance à des composés contenant des liaisons "phosphates" riches en énergie : c'est-à-dire l'ATP et la créatine-phosphate.

- Cette énergie ainsi produite, sera utilisée de 3 manières :

1 - Pour le maintien des gradients ioniques.

Les potentiels de membrane et les gradients ioniques sont maintenus et restaurés par la consommation d'énergie. Quand l'énergie n'est plus fournie (c'est ce qui se produit dans l'ischémie cérébrale), l'activité électrique du cortex est rapidement abolie (MEYER et al. I954). Nous reviendrons en détail sur les échanges ioniques du tissu cérébral au cours de la discussion de nos résultats sur la composition en enzymes oxydatifs des astrocytes.

2 - Le maintien des réponses métaboliques.

La réponse métabolique normale spécifique du cortex cérébral isolé (augmentation de la respiration par la stimulation électrique), est abolie par refroidissement temporaire à 0° (MARKS et Mac ILWAIN I959). Mac.ILWAIN (I96I), suggère que cette réponse normale dépend de la consommation d'énergie, qui empêcherait l'inactivation des gangliosides cérébraux par combinaison avec les histones.

3 - La synthèse des macromolécules.

La présence de substances riches en énergie est essentielle au bon déroulement des nombreux processus synthétiques des neurones.

II - Métabolisme oxydatif comparé des composants du tissu cérébral.

- En 1912, GRAFF a montré que la cytochrome oxydase était localisée dans le cytoplasme des cellules ganglionnaires. En 1919, à l'aide de la "Nadi-Réaction, MARINESCO, pionnier en la matière, montrait que la réaction délimitait avec précision, les substances grise et blanche, la première étant beaucoup plus colorée. Il trouvait que la cytochrome-oxydase était localisée dans le cytoplasme et les dendrites des neurones, mais non dans les axones.

- En 1930 , HOLMES trouvait que la matière grise cérébrale, consommait de l'oxygène et formait de l'acide lactique beaucoup plus rapidement que la substance blanche.

- Des études plus récentes, ont également montré cette prédominance métaboliquede la substance grise. Ainsi, Mac ILWAIN (1959-1966) trouve qu'elle respire 2 fois plus que la substance blanche. Les mêmes rapports sont avancés par ELLIOT et HELLER (1958), KOREY et ORCHEN (1959),

III - Voies de la dégradation du glucose dans le tissu cérébral.

- Nous avons vu dans le rappel biochimique, qu'au niveau du glucose-6-phosphate, deux voies de dégradation étaient possibles :

- la glycolyse directe,
- le shunt des hexoses mono-phosphatès.

- Tout laisse penser que c'est la glycolyse directe qui entre en jeu essentiellement, au niveau du cerveau.

- Le DPN, DPNH et DPND sont de bons gradients de la glycolyse directe car DPN est le coenzyme de déshydrogénases de cette voie.

- Le TPN, TPNH, TPND, sont de bons gradients du cycle des pentoses, car TPN est le co-enzyme de G6PDH, qui catalyse la première réaction du shunt.

- GLOCK et Mac LEAN (I953) trouvent dans le cerveau du rat un rapport DPN/TPN supérieur à 100 et un rapport DPNH/TPNH supérieur à 10.

IV - Apports de l'histoenzymologie à la connaissance du métabolisme oxydatif du tissu cerebral.

- La démonstration histochimique de la localisation d'enzymes d'oxydo-réduction, constitue un bon témoin du métabolisme oxydatif.

- Nous avons vu dans les paragraphes précédents que les méthodes biochimiques et physiologiques donnaient des conclusions conformes aux notres.

- L'apport original de l'histoenzymologie est de pouvoir montrer en détail de quelle manière se répartit le métabolisme oxydatif entre les différents noyaux cérébraux.

A - Architectonie de la respiration cérébrale :

Pour étudier celle-ci, le meilleur gradient est SDH-DPND, dont nous avons vu qu'il intervenait dans les 4 composants du métabolisme oxydatif présente une vue plus générale, C'est un bon gradient du métabolisme général.

La respiration cérébrale au niveau du cortex est nous l'avons vu localisée surtout dans les couches supérieures. Elle est importante au niveau de la couche moléculaire. Celle-ci est essentiellement dendritique. Dans les couches inférieures, les corps cellulaires sont mal dessinés par rapport à leur environnement, sauf dans la 5e couche où ils sont plus apparents.

Dans ces conditions, on peut affirmer que la respiration du cortex est à prédominance dendritique. Nous sommes en accord sur ce sujet avec THOMAS et PEARSE (I96I), avec FRIEDE (I962).

- Au niveau du tronc cérébral, par contre la respiration se fait sur un mode beaucoup plus variable.

- Schématiquement, on peut considérer qu'elle affecte deux types extrêmes :

  - respiration concentrée dans le périkaryon (noyau mésencéphalique V)

  - respiration concentrée dans les dendrites : (noyau du faisceau spinal du V).

- Entre ces deux extrêmes, tous les degrés ont été trouvés.

B - Architectonie de la glycolyse directe cérébrale :

- C'est la comparaison des deux réactions, SDH et DPND qui nous permet de la mettre en évidence.

- DPND; a une tendance beaucoup plus nette à se localiser dans les corps calculaires neuronaux. C'est ce qui a fait conclure à FRIEDE, que la glycolyse est cellulaire surtout, à l'inverse de la respiration. ADAMS (I965) partage cette impression. Pour notre part, nous pensons, que cette glycolyse au niveau du cortex, est également prédominante dans les couches dendritiques, car DPND y est plus actif. Cette opinion est partagée par DIXON (I953) qui comparant la glycolyse anaérobie des couches superficielles et profondes du cortex, trouve des chiffres supérieurs pour les premières, et par LOWRY et al. qui aboutissent à des conclusions identiques par des techniques enzymologiques quantitatives (I954).

C - Architectomie du shunt des hexoses mono-phosphate :

Elle est parallèle à celle de la glycolyse directe.

V - Chimio-architectomie et vascularisation.

L'intensité du métabolisme oxydatif dans une région du cerveau, est parallèle à l'intensité de sa vascularisation. Ceci a été abondamment démontré par FRIEDE (1961 b).

On voit donc l'importance que peuvent revêtir les études histo-enzymologiques dans les recherches neuropathologiques, qui par les techniques classiques, peuvent difficilement apprécier des modifications dynamiques.

VI - Chimio-architectonie et fonction.

Une étude des corrélations entre la répartition enzymatique et les ponctions des structures cérébrales, reste à faire dans le détail.

A la vue de nos résultats, on peut cependant tirer des conclusions préliminaires.

Ainsi, nous voyons que les noyaux moteurs, ont une répartition semblable :

- prédominance dans le corps cellulaire
- mais activité notable dans les dendrites.

Par contre les noyaux relais sensitifs (gracilis, cuneatus etc.....) ont une répartition inverse :

- prédominance dans les dendrites,
- avec persistance d'une activité notable dans les cellules. Grossièrement, on peut dire, que les cellules nerveuses où la prédominance métabolique siège dans le périkaryon, ont des fonctions effectrices, alors que celles où le métabolisme siège surtout dans les dendrites, ont des fonctions réceptrices et intégratives.

oOo

4e PARTIE

METABOLISME OXYDATIF DES ELEMENTS CELLULAIRE DU TISSU NERVEUX AVEC QUELQUES COMMENTAIRES SUR LEUR COMPORTEMENT PHYSIOLOGIQUE ET LEURS MODIFICATIONS PATHOLOGIQUES.

Après avoir fait l'étude comparative du métabolisme oxydatif de différents noyaux de tissu cérébral, nous nous sommes attachés à transposer les faits observés à l'échelle cellulaire.

Ceci nous a permis d'aborder le problème des corrélations bio-physiologiques entre neurones et cellules gliales.

Il nous a paru bon, pour débuter notre exposé, de traiter brièvement des connaissances acquises dans le domaine de la biochimie oxydative des structures intra-cellulaires.

Nous exposons ensuite l'aspect morphologique des cellules gliales, tel qu'il est vu, à l'aide des techniques classiques en microscopie optique ; il apparaît en effet, à la lecture des travaux histopathologiques, qu'une confusion régnait dans l'esprit de certains auteurs, quant à la dénomination des éléments dont ils parlent.

Nos propres observations, constituent la matière du 3e chapitre. Le 4e chapitre , enfin, est consacré aux discussions et commentaires que nous ont inspirés nos lectures et nos constatations. C'est surtout le sujet des relations neurones-glie que nous avons abordé.

CHAPITRE Ier

GENERALITES SUR LE METABOLISME OXIDATIF DES STRUCTURES CELLULAIRES

Chaque cellule est faite rappelons-le :

- d'un noyau,
- entouré d'un cytoplasme, cerné par :
- une double membrane limitante qui assure la régulation des échanges entre la cellule et son environnement.
- le cytoplasme contient diverses structures variables selon la cellule envisagée :

  - les mitochondries sur lesquelles nous reviendrons plus loin,
  - les ribosomes : ce sont des granules de ribonucléoprotéines, corps de Nissl des neurones. Retenus dans les mailles du reticulum endoplasmique, ils provoquent vraisemblablement la synthèse des macro-molécules protidiques.
  - le reticulum endoplasmique est une organelle creusée de nombreux canaux a limites membraneuses, occupant un volume plus ou moins grand du cytoplasme. Il serait le siège des transports organo-ioniques de la cellule.
  - l'appareil de Golgi consiste en un réseau irrégulier de canaux souvent parallèles. Il serait associé avec le pouvoir secréteur des cellules, et c'est à son niveau que se formeraient les lysosomes.

- Les lysosomes : ce sont des structures arrondies, contenant de nombreux enzymes hydrolytiques agissant à pH acide ; ils joueraient un rôle important dans les processus de digestion intra-cellulaire : phagocytose, pinocytose, et autolyse.
- Nous passons sur d'autres éléments qui sortent de notre propos (centriole, fibrilles, pigments, inclusions diverses, etc....)
- Quant aux microsomes, ils relèvent de la terminologie biochimique ce sont les fragments vésiculaires gonflés des membranes péri et intra-cellulaires, formés lors de la centrifugation fractionnelle des composants cellulaires.

Les mitochondries.

Ces organelles nous retiendrons un peu plus longuement car elles sont intimement liées aux processus biologiques d'oxydo-réduction. Elles sont présentes dans toutes les cellules des mondes animal et végétal. L'avènement de la centrifugation fractionnelle a permi d'établir qu'elles contiennent tous les mécanismes enzymatiques du cycle de Krebs, de la chaine transporteuse d'électrons, et de la phosphorylation oxydative.

Les études au microscope électronique, ont montré qu'elles sont limitées par une double membrane. La membrane externe est continue, alors que la membrane interne s'invagine pour constituer les "cristae mitochondriales". Ces crêtes divisent la mitochondrie en compartiments. Les travaux de GREEN et al. (1960-61-63), ont montré que la mitochondrie est un système complexe, fonctionnellement intégré ; elle contient des sous-unités, les particules transporteuses d'électrons, qui elles-mêmes, contiennent tous les enzymes de la chaine de transport d'électrons. Le livre de LEHNINGER (1964). la Revue de GADJOS (1965) , apportent tous les détails des faits connus ou supposés relatifs à cette structure.

Propriétés des mitochondries cérébrales :

Morphologiquement, elles ne diffèrent pas sensiblement des mitochondries d'autres organes. Plus petites que celles du foie et du rein, elles sont plus grandes dans les neurones que dans les cellules gliales. (PALAY et al. I962). Elles sont très peu abondantes dans les astrocytes (LUSE 1958), plus abondantes dans les oligodendrocytes (PALAY I958), très abondantes dans les actrocytes réactifs (LUSE I958).

Biochimiquement, elles sont semblables à celles des autres tissus. Elles sont dépourvues d'enzymes glycolytiques (GREGSON I965), à l'exception de l'hexokinase. Elles contiennent donc, les 3 enzymes qui ont fait l'objet de nos recherches : SDH, DPND, TPND.

SDH est contenu presque en totalité dans les mitochondries (FRIEDE et PAX I96I). Par contre les diaphorases sont également contenus dans la fraction microsomale.

C'est dans cette dernière et dans la fraction surnagente que sont contenus les enzymes glycolytiques.

oOo

CHAPITRE II

LA NEVROGLIE

DEFINITION - MORPHOLOGIE DES DIFFERENTS TYPES EN MICROSCOPIE OPTIQUE.

Nous individualisons :

- La névroglie d'origine neuro-ectodermique que l'on peut scinder en :
  - névroglie centrale :
    - cellules épithélio-gliales épendymo-ventriculaires
    - astrocytes
    - oligodendrocytes
  - névroglie périphérique :
    - cellules de Schwann
    - gliocytes des ganglions spinaux et sympathiques
    - gliocytes des terminaisons nerveuses
    - cellules de Muller de la rétine
- La névroglie d'origine mésodermique ou microglie .

Notre étude ayant portée sur le système nerveux central, à l'exclusion du cervelet, nous n'envisagerons que les éléments névrogliaux centraux, d'origine neuro-ectodermiques.

Rappel embryologique :

- Le tube neural est d'origine ectodermique.

- Le médullo-épithélium ainsi formé est fait de 2 types cellulaires, qui succèdent à la cellule primitive :

  - les cellules germinatives arrondies en mitoses
  - les spongioblastes (HIS I889 cité par POLAK)

- Les cellules germinatives vont donner les neuroblastes qui vont se transformer en neurocytes, puis en neurones.

- Les spongioblastes vont donner les divers éléments névrogliaux d'origine épithéliale:

  - d'une part les cellules gliales épendymo-ventriculaires,
  - d'autre part, les glioblastes. Ces derniers sont à l'origine :
    . des astroblastes qui vont devenir les astrocytes,
    . des oligodendroblastes qui vont devenir les oligodendrocytes (DEL RIO HORTEGA cité par POLAK).

- Dans l'embryon humain, les cellules neurogliales apparaissent au cours du 3e mois de la gestation (CAJAL cité par POLAK). Mais les cellules gliales n'arriveront à maturité, qu'à la naissance, et dans les premiers mois de la vie.

- Quant à la microglie, elle est d'origine mésenchymateuse (DEL RIO HORTEGA I9I9-I932). C'est le tissu réticulo-endothélial du système nerveux. Elle provient de la pie-mère et des cellules adventitielles des vaisseaux.

MORPHOLOGIE

- Les techniques histologiques usuelles (Hématéine-éosine, NISSL etc. .) ne colorent que les noyaux des cellules gliales, mais ne permettent en aucune façon de mettre en évidence leur morphologie.

- Le pas décisif , dans la connaissance de la névroglie, a été franchi quand ont été introduites les méthodes d'imprégnation métallique (CAJAL, DEL RIO HORTEGA, GOLGI).

I - Les astrocytes :

C'est CAJAL qui a décrit d'une manière définitive, les caractères morphologiques des astrocytes (1914-1932). Aussi, la description que nous en ferons sera dérivée de ses écrits, ce qui est le cas de tous les ouvrages et articles traitant de ce sujet.

a - Les astrocytes protoplasmiques.

Ils sont localisés essentiellement dans la substance grise. Ils ont un noyau arrondi, sans nucléole, plus grand que celui de l'oligodendrocyte ou du micro-gliocyte.
Son cytoplasme est parcouru par de fines gliofibrilles, que le microscope électronique a montré , groupées en faisceaux (MAXWELL et KRUGER 1965). Les prolongements cytoplasmiques sont épais, ramifiés. Certains vont s'implanter dans l'adventice des capillaires par un pied péri-vasculaire (pied suceur de CAJAL).
Du point de vue de leur architectonie, nous distinguons (HORTEGA):

1 - les astrocytes protoplasmiques en contact intime avec les capillaires et les vaisseaux. Ces cellules sont tout contre la paroi vasculaire.

2 - les astrocytes intermédiaires. Loin des neurones, ils envoient un ou plusieurs pieds vasculaires.

3 - Les astrocytes protoplasmiques, en relation intime avec le neurone (perikaryon et dendrites). Le corps de ces cellules est souvent plus petit et aplati. Leurs prolongements sont orientés vers le neurone, mais il existe toujours 1 ou 2 prolongements orientés vers les vaisseaux.

Citons 2 variétés particulières d'astrocytes protoplasmiques:

- les cellules de Bergmann du cervelet
- les cellules de Muller de la rétine.

b - Les astrocytes fibrillaires :

Ils se distinguent des précédents, par leurs prolongements qui sont beaucoup plus fins , moins ramidifiés. Ils présentent de nombreuses glio-fibrilles intra-cytoplasmiques. Ils sont pourvus aussi d'un pied suceur.

On les trouve :

- dans la substance blanche, mais aussi dans la tige pituitaire, la neuro-hypophyse et le chiasma optique.

c - Les astrocytes intermédiaires :

Fibrillo-protoplasmiques d'aspect intermédiaire, ils se trouvent à la jonction substance blanche-substance grise.
Leurs prolongements vers la substance blanche ont le caractère de ceux des astrocytes fibrillaires, alors que ceux qui sont orientés vers la substance grise ressemblent à ceux des astrocytes protoplasmiques.

2 - Les oligodendrocytes :

C'est à DEL RIO HORTEGA, que revient le mérite d'avoir su démembrer, à l'aide de sa technique au carbonate d'argent, le "3e élément" de GAJAL : l'oligodendroglie et la microglie.

Dans ses diverses publications (1931-1928), il a apporté la description définitive de ces cellules. C'est donc à lui que nous nous référerons. Ces cellules se trouvent :

- dans la substance blanche, où elles sont satellites des fibres myélinisées,
- dans la substance grise où elles sont satellites des neurones et des vaisseaux.

Elles sont sphériques ou polygonales, de taille plus petite que les astrocytes. Leur noyau est également plus petit, mais plus chromophile.

Leurs prolongements sont fins, peu ramifiés. Il est difficile de différencier les oligodendrocytes satellites des astrocytes protoplasmiques satellites. Ce problème n'a pas été définitivement résolu par le microscope électronique.

Nous décrivons avec DEL RIO HORTEGA, 4 types d'oligodendrocytes:

- Type I, cellule de Robertson :

  - se trouve dans le cortex cérébral et cérebelleux, la substance grise de la moelle.
  - Sphériques, de nombreux et fins prolongements en partent.
  - De petite taille, elles ont de I5 à 20 microns de diamètre.
  - elles s'arrangent autour des vaisseaux et des neurones.

- Type II , cellules de Cajal :

  - se trouvent dans la substance blanche.
  - ces cellules sont polygonales ou cuboïdes.
  - leurs prolongements sont plus épais que ceux de type I, et sont intimement reliés aux fibres nerveuses.
  - elles sont plus grandes que les précédentes (20 à 40 microns).

- Type III, cellules de Paladino :

  - se trouvent dans la substance blanche, surtout au niveau des pédoncules cérébraux et cérébelleux, du bulbe et de la moëlle.
  - elles émettent 3 ou 4 épais prolongements, intimement reliés à la fibre nerveuse, autour de laquelle ils s'enroulent, pouvant dessiner des anneaux ou des spirales.

- Type IV, ou cellules Schwannïdes :

- ce sont des cellules mono ou bipolaires, qui se voient dans la substance blanche cérébrale.
- elles n'envoient pas de prolongements à distance, mais s'attachent directement à la fibre nerveuse.

Citons pour terminer, un élément morphologique qui, s'il est discuté, ouvre n''anmoins des horizons importants :

- M.E. SCHEIBEL et A.B. SCHEIBEL, ont montré des terminaisons nerveuses (boutons terminaux ou boutons en passage) au niveau des noyaux des oligodendrocytes de la substance grise.

- Ces faits sont néanmoins, catégoriquement rejetés par les élèves de HORTEGA (POLAK 1965) qui les considèrent comme des artéfacts.

3 - Les cellules épendymo-ventriculaires :

Les cavités ventriculaires, et le canal de l'épendyme, sont bordées par des cellules cylindriques ou cubiques. Ces cellules, ne reposent pas sur une membrane basale limitante interne.

Elles émettent des prolongements, par leur pôle inférieur, qui viennent se brancher sur les vaisseaux sous-jacents du tissu nerveux.

Elles émettent également des prolongements latéraux qui les réunissent (HORTEGA).

oOo

CHAPITRE 3

HISTOENZYMOLOGIE OXYDATIVE DES ELEMENTS CELLULAIRES CEREBRAUX

RESULTATS PERSONNELS.

Nous avons vu à l'exposé des méthodes que nous avons employées, que la technique d'incubation en bloc, permettait une étude cytologique très fine, limitant d'une part les destructions inhérentes à la congélation des tissus frais, d'autre part, la mauvaise qualité des préparations non fixées.

Nous avons employés cette méthode pour mettre en évidence SDH et DPND.

Les résultats que nous allons exposés, ont été obtenus par l'observation de pièces travaillées, avec cette technique, et par l'observation de notre matériel chimio-anatomique.

I - Les neurones normaux .

- L'histoenzymologie oxydative permet de confirmer et de compléter les données de la morphologie classique :

- Le cytoplasme est criblé d'un grand nombre de granulations qui correspondent aux mitochondries. SDH, enzyme essentiellement mitochondrial, est démontré ainsi de cette manière. Les membranes pour cette réaction sont très finement marquées.

Avec la réaction mettant en évidence PDND, par contre, si l'on obtient une mise en évidence des mitochondries, aussi nette que pour SDH, les membranes limitantes sont beaucoup mieux dessinées, et souvent, les mitochondries apparaissent sur un fond également très positif. Ce qui semble indiquer, que la fraction microsomale porteuse d'une partie de DPND neuronale, est formée par les membranes limitantes, et le réticulum endoplasmique.

- Le noyau est dépourvu d'enzyme oxydatif, de même que les grains de lipofuchsine intra-cytoplasmique. Il faut noter toutefois, qu'avec DPND, des petites granulations bleues peu nombreuses sont parfois constatée, qui peuvent être interprétée, soit comme un dépôt de formazan à l'interface lipido-aqueuse, soit comme une hypothétique DPND intra-lysosomale.

- Les arborisations dendritiques, ont un métabolisme oxydatif variable. Tous les degrés sont constatés entre un métabolisme oxydatif absent dans les dendrites (noyau mésencéphalique du V) et un métabolisme dendritique très actif et prédominant : Ière couche granulaire du cortex.

- Une étude attentive de la périphérie des neurones et de leurs prolongements polaires, montre la présence à ce niveau de petits agrégats arrondis de mitochondries. Nous les interprétons comme des boutons terminaux ce qui est d'autant plus vraisemblable que le microscope électronique a révélé la présence de mitochondries dans les structures pré-synaptiques (DE ROBERTIS, GRAY).

- Quant aux axones, il semble d'après nos observations, que leur richesse en enzymes oxydatifs, est l'inverse de celle des dendrites. Cependant, nous possédons trop peu de documents pour l'affirmer.

- Signalons enfin, que TPND, a une localisation à peu près équivalente à celle de DPND. Les membranes limitantes sont cependant moins bien limitées.

En résumé, nous pouvons dire que le neurone est richement pourvu en enzymes oxydatifs. Le cycle de Krebs, la glyoolyse directe, shunt des hexoses mono-phosphates, et la chaine de transport des électrons, s'y déroulent.

Ce métabilisme s'effectue plus volontiers dans le perikaryon, pour certaines catégories de neurones, dans les dendrites pour d'autres, avec tous les degrés possible dans le rapport entre les activités de ces deux composants du neurone. Nous rejoignons, ici, les déductions faites à partir des données anatomo-chimiques.

2 - Les neurones ischémiques :

Nous les avons observés dans notre cas d'hémorragie ponto-pédonculaire, et dans notre cas d'amylofdose cérébro-méningée.

Outre ses caractéristiques morphologiques bien connues, le neurone ischémique est caractérisé par une perte plus ou moins complète de son métabolisme oxydatif.

3 - Les cellules épendymo-ventriculaires.

Elles sont très riches en enzymes oxydatifs, quel que soit le ferment mis en évidence. Leur répartition intra-cellulaire est uniformément reproduite :

- la membrane limitante externe est très modérément positive.
- les vacuoles de secrétion, souvent polaires supérieures sont négatives, de même des inclusions pigmentées (lipofuchsine ?) qui sont peut être éliminées par cette voie.
- le noyau est négatif.

- par contre le cytoplasme restant est très positif, en particulier son expansion inférieure. De nombreuses mitochondries sont mises en évidence, sur un fond actif homogène.

- Ces cellules sont donc le siège d'un métabolisme oxydatif intense. Tous les éléments de ce dernier, tels que nous les avons définis sont présents.

- Les cellules épithéliales des plexus choroïdes, présentent une activité métabolique encore plus intense répartie d'une manière parallèle, à celle des précédentes.

4 - Les oligodendrocytes :

Nous reprenons ici la classification d'HORTEGA.

- Type I :
  - Ce sont les petits oligodendrocytes satellites des neurones et des vaisseaux.
  - Ces cellules sont riches en enzymes oxydatifs. Elles sont mieux mise en évidence, par les réaction des diaphorases. Elles possèdent cependant des mitochondries en nombre appréciable.
  - Le métabolisme oxydatif est réparti d'une manière homogène dans le cytoplasme péri-nucléaire. Les prolongements ne sont pas mis en évidence.

- Type II :
  - Ces cellules ont des caractéristiques identiques à celles des précédentes.
  - Il est à remarquer, cependant, que leur activité métabolique est variable, d'une région à l'autre, d'une cellule à l'autre dans une même rangée inter-fasiculaire.

- Type III et IV :

  - Ce sont les oligodendrocytes les plus actifs. Une coloration bleue diffuse, très intense est constatée dans le cytoplasme et les prolongements, avec les réactions des diaphorases.

  - Par contre, SDH est plus faiblement positif.

On peut donc affirmer, que les oligodendrocytes ont un métabolisme oxydatif très actif, dont les éléments les plus importants, semblent être la glycolyse directe, et le shunt des hexoses mono-phosphates.

5. - Les astrocytes normaux :

- Les astrocytes protoplasmiques :

  - Ils ne sont pas mis en évidence par SDH, ce qui s'explique par leur pauvreté en mitochondries. Par contre, ils ont une activité DPND modérée et TPND plus intense.

  - La répartition des diaphorases est bien particulière : le pied vasculaire est l'élément le plus actif. Les autres prolongements sont également très positifs. Les membranes limitantes sont modérément actives; on note une fine bande de très forte activité, en croissant péri-nucléaire. On ne voit pas ou très peu de structure granulaire.

- Les astrocytes fibrillaires :

  - Ils ont une répartition enzymatique équivalente à celle des astrocytes protoplasmiques. Il en est de même pour les astrocytes intermédiaires.

  - On peut donc affirmer, que les astrocytes ont un métabolisme oxydatif faible. Il n'y a pas d'enzymes du cycle de Krebs. La chaine d'oxydoréduction doit être localisée dans la fraction microsomale (membranes ?)

Le shunt des hexoses-monophosphates y est plus actif que dans les neurones et les oligo-dendrocytes. La présence de DPND au niveau des membranes peut indiquer une phosphorylation oxydative.

5 - Les astrocytes réactifs :

- Ce sont les cellules du tissu nerveux qui présentent le métabolisme oxydatif le plus élevé, quel que soit le substrat utilisé.

- Le cytoplasme de ces cellules est augmenté de volume, très coloré, les pieds vasculaires, et les autres prolongements sont admirablement mis en évidence.

- Tous les éléments du métabolisme oxydatif, sont donc très actifs dans ces cellules.

oOo

CHAPITRE 4

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Nous ne reviendrons pas sur les considérations que nous inspirent nos observations sur le contenu histo-enzymologique variable des neurones. Ce problème a été de nécessité abordé dans la 3e partie de notre thèse, traitant de la chimio-architectonie.

Répétons, que de toute évidence, le métabolisme oxydatif important des neurones, quelle que soit la répartition de celui-ci aux différents niveaux de la cellule, est nécessaire à ceux-ci pour effectuer, les fonctions importantes, qui sont les leurs : réception, conduction, et transmission de l'influx nerveux, sécrétion de produits divers, trophicité de l'axone , etc. .., tous ces processus nécessitent des apports énergétiques fournis par les oxydo-réductions.

L'apparition de techniques nouvelles , dans des domaines aussi variés que les études ultra-structurales, la chimie cellulaire , la biologie moléculaire, ont ravivé l'intérêt des chercheurs pour la névroglie. En témoignent les deux symposia (1958, 1965), les nombreux articles et communications consacrés à ce sujet depuis une décade.

L'idée la plus communément admise jusqu'alors , était que la glie jouait un rôle architectural de soutient, et devenait active à la suite d'un processus lésant, le tissu nerveux et dont elle assurait alors la cicatrisation. Cette conception faisait de ces élements cellulaires, aussi abondant (10 cellules gliales pour 1 neurone Glees I955), un simple accessoire mécanique.

Devant la constatation des pieds péri-vasculaires, des astrocytes, CAJAL avait émis l'hypothèse que ceux-ci étaient les trophøcytes du neurone. La constatation des rapports étroits entre les oligo-dendrocytes interfasciculaires et la gaine de myéline avait fait penser à HORTEGA que ces cellules participait à la myélinogenèse.

Mais le peu de techniques dont on disposait alors, l'état rudimentaire dans lequel se trouvait la neurochimie, et l'attraction qu'exerçait vers le neurone les travaux physiologiques de SHERRINGTON, ADRIAN, FULTON et d'autres, les recherches architectoniques de DEJERINE, Von ECONOMO, ont fait négliger eet élément considéré comme mineur qu'était la névroglie.

Seuls les pathologistes, par les études morphologiques de la réaction névrogliale et indirectement par les travaux portant sur les gliomes, ont conservé alors, un intérêt pour ce constituant numériquement important du tissu nerveux.

Or, le foisonnement des travaux modernes sur ce sujet, stimulé par la mise au point rapide de nombreux moyens d'exploration, montre que cette mise à l'écart était tout à fait injustifiée. Sans inverser les rôles, et faire comme certains , de la véroglie, le siège des activités supérieures, la masse d'observations rassemblée, nous oblige à admettre que les astrocytes et les oligo-dendrocytes, participent d'une manière plus importante qu'on ne l'admettait jusqu'alors au fonctionnement du système nerveux.

A partir de nos constatations sur le métabolisme oxydatif de ces cellules,nous allons passer en revue quelques-uns des problèmes posés par les rapports entre les cellules nerveuses et les cellules névrogliales.

I - Les cellules épendymo-ventriculaires et choroïdiennes :

- Nous avons vu que ces cellules ont un métabolisme oxydatif très important, tous les éléments de celui-ci étant présents.

- Cette forte production d'énergie, est destinée de toute évidence au maintien des mécanismes de secrétion que possèdent ces cellules, surtout sur les cellules choroïdiennes.

- L'énergie utilisée doit être employée à la synthèse de certains éléments du LCR, en particulier des protéines le composant, et au transport actif, au niveau des membranes du produit de la sécrétion.

- Un point important, à nos yeux,est que les cellules épendymaires agissent probablement en corrélation étroite avec les astrocytes du tissu sous-épendymo-ventriculaire. L'apparition simultanée d'un métabolisme oxydatif accru, dans les cellules épendymo-ventriculaires et dans les astrocytes sous-jacents, dans nos deux cas d'hémorragie méningée, nous parait constituer un argument important en faveur de cette hypothèse.

- Il en est de même pour les constatations de PALAY (1958), qui en microscopie électronique, a démontré que la membrane limitante interne des cellules épendymaires était en contact intime avec un réseau très dense de prolongements astrocytaires.

- Les rapports entre ces deux types cellulaires, devraient se manifester d'une manière semblable à ceux qui se déroulent entre neurone et astrocyte .

2 - Les oligodendrocytes :

Nous aborderons dans ce paragraphe essentiellement, deux problèmes: les rapports oligodendrocyte-myéline, et les rapports oligodendrocytes-neurones.

A - Les rapports oligodendrocytes-myéline :

- Nous avons vu que les oligodendrocytes inter-fasciculaires quoique pourvus en enzyme du cycle de Krebs, possèdaient surtout des éléments de la glycolyse et du shunt des hexoses mono-phosphates. L'intensité de ces activités métaboliques est d'ailleurs variable , selon la localisation (les oligodendrocytes du faisceau pyramidal et de la partie supérieure de la décussation des pédoncules cérébelleux supérieurs, sont beaucoup plus actifs que ceux des pédoncules cérébelleux) et parfois selon la cellule observée.

- Pourquoi, cette activité métabolique de type plus volontiers nutritif est-elle morphologiquement si étroitement ássociée avec la gaine de myéline ? Les oligodendrocytes participent-ils à la formation, au maintien ou au renouvellement de cette gaine isolante du neurone ?

- Les recherches expérimentales utilisant le cholestérol radioactif comme marqueur, ont démontré que la myéline, une fois déposée autour de l'axone, va demeurer stable toute la vie durant, si elle n'est pas attaquée par un processus pathologique (WRIGHT I96I). Les facteurs physico chimiques conditionnant de telle stabilité ne sont pas connus, mais il est raisonnable de penser, que le réseau que dessinent les oligodendrocytes et leurs prolongements, métaboliquement très actifs remplit une partie importante de cette fonction. C'est ce qui fait penser à certains auteurs (LUMSDEN I958) que la démyélinisation de la sclérose en plaques, serait due à une lésion affectant les oligo-dendrocytes.

- En outre, la myélinogénèse par les oligodendrocytes et leurs équivalents périphériques, les cellules de Schwann, a été démontrée en culture de tissu (PETERSON et MURRAY I955 - BORNSTEIN et MURRAY I958), en microscopie électronique (DE ROBERTIS et GERSCHENFELD I96I, BUNGE et al. I96I, LAMPERT I965).

Cependant, HILD (I958) n'a jamais pu démontrer la formation de myéline par les oligodendrocytes en culture de tissu, et pense que ce sont les axones qui sont doués d'un tel pouvoir. COSTERO tire argument du fait que les oligodendrogliomes ne produisent pas de myéline pour s'opposer à ces vues. Brigitte HEGEDUS apporte un correctif à l'argumentation de COSTERO, car elle a démontrée la présence de précurseurs de la myéline dans les Schwannomes (I96I).

Quoi qu'il en soit, les évidences sont telles, qu'on ne peut plus nier le fait que les oligodendrocytes participant à la myélinogénèse.

- Les auteurs ayant étudié les étapes de la myélinisation, ont montré que le début de celle-ci s'accompagne d'une prolifération épithélio-gliale, qui aboutit à la différenciation des oligodendrocytes, puis à la formation de myéline (ROBACK et SCHERRER I935 ; BENSTEDT I937). Ces oligodendrocytes ont un métabolisme oxydatif très actif, tous les éléments de ce dernier étant également présents (FRIEDE I96I). Une fois, myélinisation effectuée, leur nombre va diminuer, de même que leur activité métabolique. Celle-ci va prendre les caractères que nous avons décrits ?

- En résumé, les oligodendrocytes participent aux métabolisme de la myéline de deux manières : en formant celle-ci, puis en assurant le maintien, voire la régénération (LAMPERT I965).

- FRIEDE, utilisant comme nous des techniques histo-enzymologiques, apporte cependant un correctif à ces affirmations. Il a constaté en effet que certains faisceaux de fibres nerveuses, ont un grand nombre d'oligodendrocytes satellites très actifs, alors que d'autres en ont très peu.

Inversement, dans les seconds, l'axoplasme est très actif , alors qu'il l'est peu dans les premiers.

Ce rapport inverse entre le métabolisme de l'axoplasme et celui des oligodendrocytes satellites de la myéline, témoigne d'une inhomogénéité métabolique de la substance blanche équivalente à celle que nous avons démontrée plus haut pour la substance grise.

- Nos observations quoique fragmentaires, sont en accord avec celles de FRIEDE. Il nous semble de plus, exister un rapport inverse entre l'activité métabolique de l'axone et celle des dendrites.

- Ces faits sont de la plus haute importance dans l'explication de la distribution lésionnelle dans la sclérose en plaques.

- FRIEDE -(I961 b) a pu constater que les plaques se formaient essentiellement au niveau des faisceaux où le métabolisme oxydatif était prédominant dans la glie.

- Cet aspect nouveau de la vulnérabilité sélective du tissu cérébral demande à être confirmé, les observations publiées étant encore trop peu nombreuses pour qu'on puisse en tirer argument.

B - Les rapports oligo-dendrocytes-neurones.

- La satellitose, ou rapports entre le corps cellulaire du neurone et les cellules gliales avoisinantes, est un des problèmes fondamentaux de la neurobiologie, sur lequel nous ne disposons encore que d'informations fragmentaires. Parmi ces cellules satellites, les oligo-dendrocytes, forment le contingent le plus élevé : 50 à 55 % du total, les astrocytes représentent 40 % de l'ensemble et les microgliocytes de 5 à 10 % (BROWNSON I956).

- Les oligodendrocytes satellites sont abondamment pourvu en enzymes oxydatifs, et tous les éléments du métabolisme énergo-formateur y sont également présents. Ceci est confirmé par les mesures effectuées par HYDEN et al. (I960), qui trouvent des concentrations élevées de succinate-oxydase et de cytochrome-oxydase, dans les oligodendrocytes satellites des cellules nerveuses du noyau de DEITERS du lapin.

- Cette importante activité métabolique, située au voisinage du neurone a fait penser à l'existence d'une interaction entre ces 2 éléments. Nous avons vu que le neurone avec ses 1100 à 1200 mitochondries (MAC ILWAIN I966), ses nombreux ribosomes, avait des fonctions métaboliques importantes : maintient des conditions normales de la conductivité, synthèse de macro-molécules protéiques (BRATTGARD et al. I958), renouvellement perpétuel proximo-distal des composants axonaux , selon le concept élaboré et expérimenté par WEISS (I962).

Or le neurone doit s'adapter presque instantanément à des demandes extrêmement variables. Il a donc été postulé, que les oligodendrocytes satellites, doués d'un potentiel énergo-formateur important, devait fournir au neurone les éléments nécessaires à une demande fonctionnelle accrue.

- La démonstration d'une telle association a été fournie avec éclat par les remarquables travaux de HYDEN et PIGON (I960), qui après stimulation importante du noyau de DEITERS chez le lapin, on trouvé une augmentation des activités succinate-oxydase et cytochrome-oxydase dans le neurone et une diminution de l'activité cytochrome-oxydase dans les cellules gliales. Des modifications parallèles du taux des protéines et des ARN cellulaires ont été également observés.

- Il ne semble pas y avoir de transfert d'activité enzymatique d'une cellule à l'autre, mais plutôt transfert de potentiel énergétique, qui est utilisé par le neurone pour former des macro-molécules, en l'occurance les enzymes dont il a besoin.

- HYDEN a mis au point le concept d'unité métabolique, qui serait représenté par le corps cellulaire du neurone, ses dendrites et sa glie satellite. Avec FRIEDE et VAN HOUTEN (I962), nous élargissons ce concept à l'ensemble de la cellule nerveuse, c'est à dire à l'axone et aux éléments synaptiques. Ces auteurs, ont mis en évidence le fait très curieux, que dans

les colonnes de CLARKE, le nombre des oligoden drocytes satellites est proportionnel à la longueur de la fibre nerveuse.

- Nos études histo-enzymologiques, ont montrées que plus l'activité oxydative était intense au niveau des dendrites, plus le nombre des oligodendrocytes actifs est important.

- Sur un plan plus synthétique , nos premières études, semblent indiquer, qu'à l'intérieur d'un même groupe fonctionnel (Noyau du bulbe), les cellules satellites actives, sont inégalement réparties autour des neurones de ce groupe. Un ou plusieurs groupes de neurones (3 ou 4), sont entourés par un plus grand nombre de cellules satellites, et également par une activité métabolique plus intense que les autres cellules du noyau.

- Ainsi, peut-être, à l'intérieur d'un même noyau, certaines cellules ont un niveau d'intégration plus élevé que les autres, elles déchiffrent les messages reçus, transmettent les données de la réponse à effectuer aux autres cellules du groupe, puis toutes les cellules du noyau transmettent l'information au relais suivant ; les cellules gliales satellites serviraient à moduler l'intensité voire la nature de cette réponse, selon les caractères du message reçu.

- Il s'agit là évidemment, d'une hypothèse toute personnelle, basée sur un petit nombre d'observations morpho-biochimiques.

- Cette hypothèse peut donner lieu, cependant, à des travaux fructueux.

- Il faudra tout d'abord, essayer d'établir un rapport quantitatif entre le nombre de cellules gliales actives, la surface dendritiques qui s'y rapporte, et le nombre d'éléments synaptiques.

Il faut ensuite, essayer d'établir si ces éventuels rapports, ne sont pas modifiés lors de certaines manifestations pathologiques, où des défauts dans la modulation des informations reçues se manifestent (mouvements anormaux)

mais aussi dans l'épilepsie, où se manifeste un hyperfonctionnement neuronal, sans commune mesure avec la réponse qui devrait se manifester après l'incitation reçue.

- Nous en arrivons tout naturellement, à discuter du rôle des cellules satellites dans la genèse des activités supérieures et en particulier de la mémoire. Sous ce terme générique, nous incluons l'emmagasinage de tous les comportements innés et acquis. HYDEN (1958), a exposé devant le Congrès international de Biochimie de Vienne, sa théorie de la mémoire. Tirant argument du fait que les comportements innés étaient in duits par cette autre mémoire qu'est le code génétique, il en a déduit que la mémoire, comme le code génétique, avait pour support les acides nucléiques.

- Les expériences de ce même auteur, ont apporté une preuve indirecte à cette hypothèse. HYDEN et EGYHAZI (1963), ont montré que la composition des ARN des oligodendrocytes satellites, variait après l'appentissage d'un comportement. Chez les sujets entrainés, il y avait des quantités plus grandes d'adénine, et moins grandes de cytosine que chez les sujets non entrafnés. Ainsi les rapports entre les bases organiques, sur lequel reposerait la mémoire, ont été modifiés lors d'une acquisition mnésique.

- Des faits curieux, mis en évidence récemment par BABICH et al. font également penser à un rapport entre ARN et mémoire. Ils ont réussi à provoquer l'apparition d'un comportement chez des rats non entrainés, par injection intra-péritonéale d'ARN, isolés du cerveau de rats ayant acquis le comportement. Par contre l'injection d'extrait d'ARN de cerveau de rats "naffs" ne provoquait pas l'apparition du comportement (I965).

- Il est évident que tout ceci mérite des investigations complémentaires. Néanmoins, ces théories ouvrent des horizons si vastes et si nouveau, qu'il nous était difficile de ne pas en faire état.

- Pour conclure ce paragraphe, nous avons donc vu que les oligodendrocytes et neurones étaient métaboliquement liés en une même unité.

Celle-ci doit-elle être envisager comme un tout ou fractionnée en sous-compartiments correspondant à des niveaux anatomo-physiologiques différents ? Ceci devrait être l'objet de travaux ultérieurs.

Cette énergie accessoire que possède les cellules gliales, semble être utilisée pour former les macromolécules nécessaire à la fonction neuronale, et peut être aussi à la synthèse des ARN aussi bien gliaux que neuronaux sur lesquels reposerait la mémoire.

3 - Les astrocytes.

- Nous avons vu, que les astrocytes normaux, pauvres en mitochondries, en enzymes du cycle de Krebs et de la chaine de transport d'électrons, avaient un métabolisme glycolytique non négligeable.

- De tels résultats sont en accord avec les données d'autres auteurs : OGAWA et ZIMMERMANN 1959, OSTERBERG et WATTENBERG 1962, FRIEDE 1962.

- Cependant, POTANOS et al., MOSSAKOWSKI 1962, SCHIFFER et VESCO 1963, trouvent une réaction SDH positive par la méthode d'incubation en bloc. Ayant employée les deux techniques, nous n'arrivons pas à des conclusions identiques à ces derniers auteurs . En effet, la démonstration de la pauvreté des astrocytes en mitochondries a été apportée de multiples fois.

Deux explications peuvent être proposées pour expliquer ces malentendus :

- Il peut y avoir des erreurs dans la dénomination des cellules. Ceci est tout à fait possible car la technique d'incubation en bloc offre une richesse de détails cellulaires incomparablement plus grande que la technique d'incubation de coupes. En particulier, les fins prolongements des oligodendrocytes

sont bien mis en évidence et ils peuvent être confondus avec les astrocytes, si les critères morphologiques rigoureux que nous avons cités plus haut, ne sont pas respectés.

- deuxième cause d'erreur : la technique de POTANOS et al., consiste à injecter à l'aide d'une fine aiguille, le milieu d'incubation dans la pièce fraiche de biopsie. Il est possible qu'une telle modification de l'environnement des astrocytes, provoque une réaction de ceux-ci identique à celle que l'on voit en pathologie et dont nous allons parler maintenant.

- Les astrocytes réactifs :

- Le mode réactionnel typique des astrocytes, tel qu'il est décrit en neuropathologie classique, est l'astrocytose gémystocytique ou protoplasmique, ce dernier terme qui peut prêter à confusion étant le plus employé en France. Le cytoplasme de ces astrocytes, quand se présentent certaines circonstances pathologiques, va se gonfler, alors que le noyau s'excentre.

- L'un des grands mérites de l'histoenzymologie qualitative appliquée, a été de montrer que cet état s'accompagnait d'une augmentation précoce, rapide, importante de la charge enzymatique oxydative. Le tableau suivant (voir page suivante), emprunté à FRIEDE et complété, rassemble les conditions pathologiques dans lesquelles de tels faits ont été observés.

- Pour eertains auteurs, cette augmentation porte surtout sur les enzymes participant à la glycolyse (OSTERBERG et WATTENBERG 1962 - RUBINSTEIN et al. 1962). Pour notre part, nous avons observé que tous les éléments du métabolisme oxydatif était considérablement accrus dans ces cellules.

- Ces constatations, d'une faible activité glycolytique dans l'astrocyte normal, et d'un métabolisme oxydatif d'une ampleur inégalée dans les astro-

cytes réactifs, nous fait poser la double question, du rôle de ces cellules dans la biologie du système nerveux, et des facteurs déclenchants de cette réactivité.

- Nous n'allons aborder qu'une partie du problème, en traitant successivement du rôle des astrocytes dans la régulation de certains échanges ioniques et de la fonction glucidique de ces cellules.

- Nous laissons de côté, divers problèmes, d'intérêt tout aussi grand, mais qui se rattachent d'une manière plus lointaine au métabolisme général du tissu nerveux.

Affections dans lesquelles une augmentation de l'activité oxydative a été constatée dans les astrocytes (d'après FRIEDE I965 - complété).

Oedème péri-tumoral	FRIEDE	I958
S.E.P.	FRIEDE	I96I
Encéphalopathie expérimentale au cyanure	Van HOUTTEN et FRIEDE	1961
Blessure cérébrale par le froid	RUBINSTEIN et al.	1962
Anoxie expérimentale	COLMANT	1962
Infarctus cérébral	FRIEDE	I962
Sclérose cérébrale diffuse	NELSON et al.	I962
S.L.A. - Cicatrices	OSTERBERG et WATTENBERG	I962
Oedème péri-tumoral	SCHIFFER et VESCO	I962
Oedème péri-tumoral	MULLER et NASU	I962
Maladie d'Alzheimer	FRIEDE et MAGEE	I962
Région péritumorale	SMITH	I963
Région péritumorale	RUBINSTEIN et SUTTON	I963
S.E.P.	IBRAHIM et ADAMS	I963
Région péritumorale	O'CONNOR et LAWS	I963
Démences séniles	FRIEDE	I965
Hémorragies cérébroméningées	SCHONBACH	I966
Amyloïdose cérébroméningée	SCHONBACH	I966

4 - Coupe du bulbe
au niveau des olives

DPND x 10.

A - Rôle des astrocytes dans la régulation de certains déplacements ioniques.

- La polarisation des membranes liées aux déplacements ioniques, joue un rôle essentiel dans la genèse de la conduction nerveuse.

- Au repos l'axoplasme à une différence de potentiel de -60 mV. par rapport au milieu extra-neuronal. Ce potentiel de membrane est établi par une distribution apropriée de certains ions : Na+ a une concentration basse dans l'axoplasme, relativement haute, dans le milieu extra-neurobal, La perméabilité de la membrane pour Na+ est par ailleurs faible. Par contre, K+ a une concentration intra-neuronale plus élevée. Cet état de non-équilibre est maintenu par un apport constant d'énergie : Na+ diffuse à l'intérieur de la cellule et est rejeté par la "pompe à sodium" actionnée par l'ATP. Le mécanisme de ce phénomène reste à expliquer.

-L'excitation du neurone va momentanément changé cet état. Na+ traverse la membrane passivement, l'axoplasme se charge positivement , et les ions K+ se déplacent vers le milieu extra-neuronal. Cette modification de la perméabilité ne dure que quelques milli-secondes, quand l'état initial est restauré, le sodium doit être "pompé" vers le milieu extérieur.

- On voit donc que des modifications extrérieures ou intérieures de l'équilibre ionique du neurone peuvent avoir pour conséquence, un trouble important de la conduction nerveuse. On peut alors se demander s'il n'existe pas un mécanisme régulateur des échanges ioniques entre le neurone et les capillaires.

- De nombreuses discussions ont opposé les chercheurs, qui partant de techniques différentes, ont souvent abouti à des résultats discordants quant à la nature de ce milieu.

- Afin de clarifier notre exposé, nous allons évoquer successivement les arguments histologiques et ultrastructuraux, les arguments physiologiques

et les arguments expérimentaux qui ont aboutis à des données très divergentes.

- Tout d'abord, quel est le lien entre l'étude du métabolisme oxydatif des astrocytes, tel que nous l'avons étudié, et la régulation des échanges ioniques ? Il est essentiel, et nous l'avons déjà abordé lors de notre récapitulation des évènements se déroulant lors de la conduction. Les physiologistes nous ont en effet appris que le mécanisme de la "pompe à sodium" était largement répandu au niveau des cellules. Nous avons vu que le fonctionnement de cette "pompe" nécessitait des apports énergétiques constants sous forme de liaisons phosphates riches en énergies. La formation d'ATP est, au niveau du tissu cérébral sous la dépendance presque exclusive, de la dégradation oxydative du glucose. Ainsi, la "pompe à sodium" exige, pour que son fonctionnement soit correct, tous les éléments du métabolisme oxydatif.

a - Arguments histologiques :

- Les astrocytes par l'intermédiaire de leurs pieds péri-vasculaires, sont en relation intime avec les parois des vaisseaux cérébraux. La paroi des capillaires cérébraux est totalement entourées par les pieds suceurs (DEMPSEY et WISLOCKI 1955). Autour des artères les prolongements astrocytaires se terminent sur la paroi externe de l'espace péri-vasculaire, qui n'est qu'un cul-de-sac de l'espace sous-arachnoïdien.

- Les observations ultra-structurales (DE ROBERTIS - GERSCHENFELD 1961), n'ont pu démontrer la présence d'un espace extra-cellulaire important. Des espaces larges seulement de 100 à 250 Angströms étaient observés entre des membranes adjacentes. Sur ces bases, HORSTMANN et MEVES (1959), ont calculé que cet espace n'occupait que 5 % du volume total du tissu nerveux.

- Les morphologistes ont donc supposé que cet espace extra-cellulaire, n'avait qu'un rôle modeste dans les échanges ioniques, et que les astrocytes, avec leurs pieds suceurs, formaient le compartiment inter-neurono-capillaire.

b - Arguments physiologiques.

- En ceci, les morphologistes, se sont trouvés devant une opposition violente des physiologistes. Ces derniers, par les méthodes habituelles de mesure de l'espace extra-cellulaire, trouvaient des chiffres beaucoup plus élevés :
  - 30 % pour l'espace du Na+ (MANERY et BALE I94I)
  - 50 % pour l'espace du Cl- (MANERY et HAEGE I94I)
  - 40 % pour l'espace du Cl- (ELLIOTT et JASPER I949)
  - I7 % pour l'espace du ferrocyanide et
  - 14 % pour l'espace de l'inuline (ALLEN I955).

- WOODBURY et al. (I956), étudiant la diffusion du chlore radioactif, trouvaient un espace extra-cellulaire de 25 %.

- Par ailleurs, l'impédance basse et spécifique du cortex cérébral ont fait estimer à Van HARREVELD et SCHADE (I960), l'espace extra-cellulaire à 25 %.

- Ces différences énormes entre les aspects histologiques et les résultats physiologiques peuvent être expliqués de 2 façons :

  1 - Le Na+ et le Cl- présents dans le tissu nerveux sont contenus dans les astrocytes (KATZMANN I96I). De plus les membranes astrocytaires sont perméables aux ions dans les deux sens et ont une résistance électrique basse (Van HARREVELD et SCHADE I959).

  2 - Un espace extra-cellulaire important existe dans le tissu nerveux mais les techniques nécessaires à la préparation des pièces microscopiques, provoquent le transport de matériel extra-cellulaire dans le compartiment intra-cellulaire (Van HARREVELD, I962).

c - Arguments expérimentaux .

- De nombreux travaux expérimentaux ont été mis en oeuvre afin de confirmer l'une ou l'autre de ces possibilités.

- GERSCHENFELD et al. (I959), ont provoqué des oedèmes cérébraux expérimentaux, par hyperconcentration en sodium. Ils ont constaté, en microscopie électronique, une augmentation considérable du volume des astrocytes, mais l'espace inter-cellulaire, restait égal à environ 200 Angstroëms. Par ailleurs, ils ont constaté que l'incubation de tranches cérébrales in vitro, telle qu'elle est pratiquée pour mesurer physiologiquement l'espace extra-cellulaire, provoquait un gonflement identique des astrocytes.

- Ils concluaient de leurs travaux, que les astrocytes tenaient lieu d'espace extra-cellulaire dans le tissu cérébral.

- Les travaux de LASANSKI et WALD (I962) sur la rétine, ont montré en microscopie électronique, que le ferrocyanide s'infiltrait rapidement dans l'espace extra-cellulaire de la rétine, et ne pénétrait pas dans les cellules de Müller.

- Van HARREVELD et al. (I956, I96I, I964), ont démontré que l'asphyxie du tissu cérébral, provoque en quelques minutes, une augmentation marquée de son impédance, suggérant la disparition des électrolytes de l'espace extra-cellulaire.

- Ces mêmes auteurs en ont postulé que le transport des électrolytes vers le milieu intra-cellulaire, est causé par un accroissement de la perméabilité des membranes astrocytaires pour les ions Na^+, Cl^-, K^+. Cette membrane resterait imperméable aux ions organiques.

- Il n'est pas inconcevable, que la forte stimulation, et les altérations chimiques provoquées par les fixateurs, entrainent un transfert ionique similaire vers les astrocytes.

- C'est pour vérifier cette présomption, que Van HARREVELD et al. (I965) évitant la fixation chimique, et la remplaçant par la "Freeze-substitution", (congé laiton brusque, suivie d'une substitution de l'eau par l'acétone, ont mis au point une série d'expériences. Ils ont ainsi fait apparaître sur les clichés ultrastructuraux de leurs préparations, un espace extra-cellulaire de l'ordre de 23,6 % en moyenne.

- Les travaux de NICHOLLS et KUFFLER (1964) sur le système nerveux central de la sangsue, dont les particularités histologiques, bien explicitée par COGGESHALL et FAWCETT (I964), facilitent l'étude des relations neurones-glie, ont révélé des faits intéressants:

  - les mouvements de Na+ se font par l'intermédiaire de l'espace extra-cellulaire vers le neurone, et non par l'intermédiaire des cellules gliales,

  - aucun fait ne suggère un transport actif du sodium par les cellules gliales.

  - les cellules nerveuses après excision des cellules gliales continuent à fonctionner normalement.

  Il ne semble donc y avoir, à l'état normal aucune évidence en faveur d'un rôle quelconque de la glie dans les transports ioniques.

- Il nous faut maintenant faire le point. En cela les observations neuropathologiques et histo-enzymologiques, nous serons d'une grande utilité.

- La pauvreté à l'état normal des astrocytes, en mitochondries et en enzymes oxydatifs, témoignent du fait, que s'ils jouent un rôle dans les échanges ioniques, celui-ci n'est que passif. Par contre les astrocytes

réactifs avec leur charge enzymatique oxydative très importante, peuvent avoir un rôle actif.

- FRIEDE (1964), dans le but de savoir quels étaient les facteurs déclenchants de l'astrocytose hypertrophique, a étudié les relations entre la composition ionique de l'environnement, et la charge enzymatique oxydative des astrocytes en culture de tissu. Il a vu que l'astrocytose réactionnelle était déclenchée par une élévation de la concentration en Na^+ du milieu environnant. Par contre, les modifications de la concentration en K^+ n'amenaient aucune réaction.

- Pour notre part, nous pensons que les astrocytes normaux, ne jouent aucun rôle dans la régulation des échanges ioniques du tissu cérébral. En effet, pour qu'ils le fassent, il faudrait que l'un des deux facteurs de l'alternative suivant, soit vérifié :

  1 - Leur membrane cellulaire est d'un type particulier, car elle permet des échanges ioniques importants, sur un mode passif. C'est compatible avec le faible métabolisme oxydatif de ces cellules ; ça l'est moins avec le potentiel des membrane de repos des astrocytes, qui est de -50 à -70 mV. (TASAKI I965).

  II- Les membranes astrocytaires nécessitent un transport actif du sodium, et c'est par ce mode, que les échanges ioniques du tissu nerveux sont réglés. Il faudrait alors admettre, que cette énergie est fournie par des éléments extérieurs, ce qui est hautement improbable.

- Les échanges ioniques à l'état normal doivent donc se faire par l'intermédiaire de l'espace extra-cellulaire, dont on a vu qu'il n'était peut-être pas aussi réduit qu'on ne le pense encore souvent.

- Cependant, au cours de certains processus pathologiques, une concentration anormalement importante en ions sodium et en eau, apparait au niveau de l'espace extra-cellulaire (certains oedèmes cérébraux par exemple). Cette hyperconcentration en sodium, diffuse dans le neurone mais aussi dans les astrocytes. Les neurones, déjà pourvu du mécanisme de la pompe à sodium, rejette ce dernier vers l'espace extra-cellulaire. Par contre, les astrocytes, non pourvus de ce mécanisme du fait du peu d'énergie immédiatement utilisable, par effet DONNAN, attire des concentrations ioniques et de l'eau en quantité importante et gonflent. Ce sont ces facteurs physico-chimiques, qui doivent déclencher l'apparition d'une synthèse protéique au niveau des astrocytes, et leur faire former le matériel métabolique nécessaire à l'établissement d'un nouvel équilibre ionique, Ainsi les astrocytes, attireraient, initialement la surcharge ionique, protégeant ainsi les fonctions neuronales, qui pourraient être perturbées par cet afflux inhabituel et ces besoins énergétiques nouveaux.

- Il est également probable, que ce mécanisme apparait en sens inverse, quand c'est le neurone qui est atteint.

- Ainsi donc, la réactivité astrocytaire , serait déclenchée par des modifications de la composition ionique de son environnement.

- Est-ce le seul facteur déclenchant ? Nous ne le pensons pas, mais n'irons pas plus avant dans cette affirmation.

Le fait que cette hyper-réactivité métabolique est due à la synthèse des enzymes par l'astrocyte lui- même, nous semble confirmer par deux ordres de faits :

- OSTERBERG et WATTENBERG 1962-1963, n'ont pu faire apparaître expérimentalement une telle réaction, que sur des rats âgés de plus de huit jours.

- FRIEDE (1965) n'a trouvé qu'une réaction enzymatique très modeste dans les cellules gliales type Alzheimer de la maladie de Wilson.

- Une absence de synthèse protéique par immaturité, dans le premier cas, un déficit de cette synthèse dans le second cas, où les noyaux des astrocytes sont modifiés, ce sont les explications les plus logiques que l'on peut fournir.

B - Rôle des astrocytes dans le métabolisme glucidique.

- Nous serons très bref sur ce point. Nous avons vu que les astrocytes possèdent des enzymes de la glycolyse.

- De plus le glycogène, normalement présent dans les astrocytes, s'y localisent d'une manière particulièrement abondante, lors de circonstances pathologiques : irradiations (MIQUEL et HAYMAKER I965, MAXWELL et KRUGER I965), blessures cérébrales (FRIEDE I954, SHIMIZU et HAMURO I958).

- Le glyoogène par contre disparait des cellules gliales de la sangsue quand une activité neuro-musculaire importante lui a été imposée (FRIEDE I954).

- Par ailleurs, la phosphorylase, enzyme de dégradation du glycogène est présente en abondance dans les astrocytes (FRIEDE I959).

- Il est donc vraisemblable que les astrocytes, jouent le rôle de trophocytes du neurone. Ils gardent en réserve le glycogène et dégradent celui-ci en glucose, suivant les besoins.

oOo

CONCLUSIONS

L'installation d'un laboratoire d'histochimie doté de perfectionnements techniques les plus modernes dans le cadre du Service d'Anatomie Pathologique du Centre Hospitalier Universitaire Saint-Antoine dirigé par Monsieur le Professeur Agrégé Louis ORCEL nous a permis d'étudier certains aspects du métabolisme oxydatif du tissu nerveux.

Nous avons mis en évidence par les méthodes histoenzymologiques, la respiration beaucoup plus intense de la substance grise du cerveau et des noyaux gris du tronc cérébral par rapport aux éléments blancs. Une étude détaillées de la répartition de la DPN diaphorase dans le tronc cérébral, enzyme choisi parce qu'il représente un paramètre fidèle du métabolisme énergétique, nous a permis de voir que le métabolisme oxydatif était d'intensité variable selon les noyaux envisagés, mais réparti d'une manière différente entre les éléments constitutifs, selon le noyau étudié. Nous nous sommes penchés en outre sur l'étude du métabolisme oxydatif des cellules gliales.

Nous avons ainsi trouvé, que les oligodendrocytes, présentaient un métabolisme oxydatif plus important que celui des astrocytes, en particulier le métabolisme glucidique.

Les mêmes astrocytes ont par contre un pouvoir d'adaptation important et nous avons montré que l'astrocytose gemystocytique ou protoplasmique s'accompagnait d'une hyperactivité métabolique intense.

Les cellules de la bordure épendymoventriculaire, et les cellules bordantes des plexus choroïdes, ont une activité intense que leur rôle sécrétoire explique.

Nous avons enfin discuté à la lumière de ces faits, la biologie des cellules neurogliales :

- Rôle des oligodendrocytes dans le métabolisme de la myéline,
  . comme satellites des cellules nerveuses, avec leur éventuelle participation aux activités supérieure (mémoire).

- Rôle des astrocytes :
  . dans le maintien de l'équilibre ionique du tissu nerveux
  . dans le métabolisme des glucides du tissu nerveux.

Nous avons enfin discuté la place des techniques histoenzymologiques dans les recherches ultérieures.

Par leurs facilités d'application, la qualité des résultats qu'elles apportent, ces techniques devraient, à nos yeux être employées plus largement par les neuropathologistes.

oOo

Vu, le Président de Thèse :

M. P. CASTAIGNE

Vu, le Doyen de la Faculté :

M. G. BROUET

Vu et permis d'imprimer
le Recteur de l'Académie de Paris
M. J. ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

ADAMS, C.W.M. -

Neurohistochemistry, I965, Elsevier.

ALLEN J.N.-

1955.- Extracellular space in the central nervous system. Arch. Neurol. Psychiat. 73 - 24I.

ANTOPOL W., GLAUBACH, S. et GOLDMAN, L.-

I958 - Transactions of the New-York Academy of Sciences I2, I56-I60.

BABICH, F.R., JACOBSON, AL., BUBASH, S. et JACOBSON, A.-

I965. Transfer of a response to naive rats by injection of ribonucleic acid extracted from trained rats. Science I49, 656-657.

BARKA, T., ANDERSON, J.P.,

1963. Oxidative enzymes - In Histochemistry. p. 296, Hoeber Harper.

BENSTED, J.P.M. et al.

I957. J. Embryology. 5, 428.

BLACKWOOD, C.E., MATEYKO, GR et MANDL, I.-

I962. Cancer Res. 22, 8.

BORNSTEIN, M.B. et MURRAY, M.R.,

I958. Sérial observations on patterns of growth myelin formation, maintenance and degenration in cultures of newborn rat and kitten cerebellim. J. Boiphys. Biochem. Cytol. 4, 499-504.

BROWNSON, R.H.-

I956. Perineuronal satellite cells in the motor cortex of aging Brains. J. Neuropath. I5, I90-I95.

BUNGE, M.B., BUNGE, R.P. et RIS, H.-

I96I. Ultrastructural study of remyelination in an experimental lesion in adult cat spinal cord. J. Biophys. Biochem. Cytol. IO, 67, 94.

BURSTONE, M.S.-

I962. Dehydrogénases in Enzyme Histochemistry p. 470. Academic Press.

CASCARANO, J. et ZWEIFACH, B.W.

I959. J. Biophys. Biochem. Cytol. 5, 309-3I8.

CHANCE, B. et WILLIAMS, G.R.-

I958. The respiratory chain and oxidative phosphorylation Adv. in Enzym. I7, 65-I34.

CHERONIS, N.D. et STEIN, H.-

I956. J. Chem. Educ. 33, 120-125.

GOGGESHALL , R.E. et FAWCETT, D.W.-

I964 . The fine structure of the central nervous system of the leech Hirudo Medicinalis. J. Neurophysiol. 27, 229-289.

COLMANT , H.J.-

I962. Histochemical detection of various enzymes in selective neuronal necrosis of rat brain. Proc. 4 th. Int. Congr. Neuropath. Stuttgart. I, 89-94.

COSTERO, I,-

I958. In Biology of Neuroglia p. 8I, Windle ed. Ch. Thomas.

COUJARD , R.-

I943. Bull. Histol. appl. physiol. et Pathol. et Tech. microscop. 20 , 161-173.

DEMPSEY, E.W. et WISLOCKI, G.B.-

I955. An electron microspic study of the blood brain barrier in the rat, employing silver nitrate as a vital stain. J. Biophys. Cyto. I, 245-256.

DE ROBERTIS, E.D.P. et GERSCHENFELD, H.M.-

I96I. Submicroscopic morphology and function of glial cells. Int. Rev. Neurobiol. 3, I-65.

DE ROBERTIS, E.et CARREA, A.-

I965. Biology of neurglia . Elsevier. Amsterdam.

DIXON, K.C.-

I953. Quart. J. exp. Physiol. 39-129.

DIXON, K.C.-

I965. Ischemia and the neurone. In neuro-histochemistry. Adams Ed. ch. I5. p. 558-598. Elsevier. Amsterdam.

ELLIOT, K.A.C. et JASPER, H.-

I943. Amer. J. Physiol. I57-I22.

ELLIOT, K.A.C. et HELLER , I.H.-

1955. The metabolism of normal brain and human gliomas in relation to cell type and density. Canadian journal of Biochemistry 33, 395.

EHRLICH, P. -

I885 in F. Himmelweit, Ed. Collected papers of Paul Ehrlich I956. p. 433. Londres. Cité par Dixon.

EHRLICH, P. et BRIERGER, L.-

I884. Cité par Dixon. Z. Klin. Med. 7, I54.

FARBER, E. et BUEDING, E.-

Histochem. and Cytochem. 4, 357-362.

FARBER , E. et LOUVIERE, C.D.-

I956. J. Histochem. and Cytochem. 4, 347-356.

FRIEDE, R.L.-

I954. Der Kohlenhydratgehalt der Glia von Hirudo bei verschiedenen Funktionszustanden. Z. Zellforsch. I954. 4I, 509-520.

FRIEDE, R.L.-

I954. Die Bedeutung der Glia fur den zentralen Kohlenhydratstoffwechsel. Zbl. allg. path. Anat. 92, 65-75.

FRIEDE, R.L..I

I956. Uber Beziehungen zwischen histochemischer Glycogenbefunden und der Hirnwellenfrequenz im E E G . an einem Material von menslichen Biopsien. Z. ges. Neurol. Psychiat. I94, 2I3-237.

FRIEDE, R.L.-

Thalamocortical relations reflected by local gradations of oxydative enzymes. In regional Neurochemistry . Kety et Elkes ed. p. I50-I59.

FRIEDE, RL.L-

I96I -
a - Enzyme histochemical studies in multiple sclerosis. Arch. neurol. 5, 433-443.

b - A histochemical study of DPND in human white matter. J. Neurochem. 8, 17-30.

FRIEDE, R.L.-

I962. Cytochemistry of normal and reactive astrocytes. J. Neuropath. exp. Neurol. 21, 471-478.

FRIEDE, R.L.-

I964 . The enzymatic response of astrocytes to various ions in vitro. J. cell. Biol. 20, 5-15.

FRIEDE R.L.-

I965. Enzyme histochemistry of Neuroglia. In Biology of Neuroglia. De Robertis et Carrea Ed. p. 35-47 . Elsevier Amsterdam.

FRIEDE, R.L. I965.-

Enzyme histochemical studies of seniles plaques. J. Neuropath. exp. Neurol. 24, 477-49I.

FRIEDE R.L. et FLEMING, L.M.-

I963 . A mapping of the distribution of LDH in the brain of rhesus monkey. Amer. J. Anat. II3, 215-234.

FRIEDE , R.L., FLEMING, L.M., KNOLLER :

I963. A quantitative appraisal of enzyme histochemical methods in brain tissue. J. Histochem. Cytochem. II, 23I-245.

FRIEDE, R.L. et MAGEE, K.R.-

I962. ALZHEIMER'S disease. Neurology I2, 2I3-222.

FRIEDE, R.L. et PAX, R.A.-

I96I. Mitochondria and mitochondrial enzymes. A comparative study in the cat brain. Histochimie 2, I86.

FRIEDE, R.L. et Van HOUTEN, W.-

Neuronal extension and glial supply, functional significance of glia. Proc. nat. Acad. Sci. 5, 8I7-82I.

GADJOS, A. I965.- phosphorylation oxydative et structure mitochondriale. Presse Médicale 73, 2367.

GERSCHENFELD, H.M., WALD, F., ZADUNAISKY, J.A. et DE ROBERTIS, EPD

I959. Function of Astroglia in Water Ion metabolism of the CNS. Neurology 9, 4I2.

GLEES, P.-

I955. Neuroglia morphology and Function. Ch. Thomas. Springfield.

GLEES, P.- The biology of the neuroglia : a summary, In Biology of Neuroglia

GLENNER, G.G.-

I965. Enzyme Histochemistry in GWM Adams. Neurohistochemistry p. 109. Elsevier.

GLOCK, G.E. et MC LEAN, P.-

I953. Biochem. J. 55, 400.

GRAFF, S.- I9I2. Frankfurt . Z. Path. II, 358.

GREEN, D.E.-

I960. Radiation Res. suppl. 2, 504.

GREEN, D.E. et ODA, T.-

I96I. J. Biochem. Tokyo. 49I.

GREGSON, N.A.-

I965. Cytochemistry of the nervous system in Neurochistochemistry. p. I89. Adams ed. Elsevier.

HANNIBAL, M.J. et NACHIAS, MM.-

I959. J. Biophys . Biochem. Cytol. 5, 279.

HARTMANN, J.F. I958. In biology of Neuroglia. Windle ed. p. 50-56.

HEGEDUS, B.-

I96I. Recherches histochimiques sur la surcharge graisseuse du neurinome. 4 th. International Congress of Neuropathology. Vol. I p. 60-62.

HILD, W.- I957. Myelinogenis in cultures of mammalian central nervous tissue. Z. Zellforsch. 46, 71-95.

HILD, W.- I958. In Biology of Neuroglia. Windle ed. p. 74-78.

HIRSCHBERG, E. et WINTERSTEIN, H.-

I9I7. cités par Dixon. Z. physiol. Chem. I00-I85.

HOLMES, E.G.-

I930. Biochem. J. 24, 9I4.

HORSTMANN, E. et MEVES, H.-

I959. Die Feinstruktur des molekularen Rindengraues und ihre physiologische Bedeutung. Z. Zellforsch. 49, 569-604.

HORTEGA, P. DEL RIO.-

I9I9. El tercer elements de los centros nervoses. Bul. Soc. Esp. Biol. 9, 69-I20.

HORTEGA, P. DEL RIO -

I928. Tercera aportation al conocimiento morfologico e interpretacion functional de la oligodendroglia. Mem. Real. Soc. Esp. Hist. Nat. I4, 5.

HYDEN, H. - I958. In Pro. Internat. Congr. Biochem. 4 th. Congress Symposium III 64. Pergamon, Londres.

HYDEN, H. et EGYHAZI, E. -

I963. Glial R.N.A. changes during a learning experiments in rats : Proc. nat. Acad. Sci. 48, I366-I373.

HYDEN, H. et LANGE, P. -

I96I. Différences in the metabolism of oligodendroglia and nerve cells in the vestibular area. In Regional Neurochemistry. Kety et Elkes ed. I90-I99.

HYDEN, H. et PIGON, A. -

I960. A cytophysiological study of the functional relationship between oligodendroglial cells and nerve celss of Deiter's nucleus J. Neuro-chem. 6, 57-72.

IBRAHIM, M.Z.M. et ADAMS, C.W.M. -

I963. The relationship between enzyme activity and neuroglia in plaques of multiples sclerosis. J. Neurol. Neurosurgery. Psychiat. 26, I01-110.

JAMBOR, B. - I6O. Tetrazoliumsalze in der Biologie. Fischer. Iena. Allemagne.

KARMARKAR, S.S., PEARSE, A.G.E., SELIGMAN, AM. -

I960. Preparation of nitrotetrazolium saltz containing benzothiazole. J. Org. Chemistry : 25, 575.

KATZMAN, R. -

I96I. Electrolytes distribution in mammalian central nervous system. Neurology. II, 27.

KETY, S.S. - I957. General metabolism of the brain in vivo. In Metabolism of the Nervous System. Richter ed. p. 221-237. Pergamon. Londres

KETY S.S.- I962. Blood Flow and metabolism of the humain brain in health and disease. In Neurochemistry. Elliot. Page. Quastel ed. II3-I27.

KOREY, S.R. et ORCHEN, M.-

Relative respiration of Neuronal and Glial cells. J. of Neurochemistry, 3, 277.

LAKON, G.- I942. Ber. Dent. Botan. Ges. 60, 299-305. 60, 434-444.

LAMPERT, P.-

I965. Demyélination and remyelination in E A E . J. of Neuropath. and Exp. Neuro. 24, 37I - 385.

LASANSKY A. et WALD, F.-

I962. The extra-cellular space in the toad retina as defined by the distribution of ferrocyanide. J. Cell. Biol. I5- 463-479.

LAZARUS, S.S., WALLACE, B.J., EGGAR, G.W.F., VOLB, B.W.-

I962. Enzyme localisation in rabbit cerebellum and effect of post mortem autolysis. J. Of Neurochemistry 9, 227.

LEHNINGER, A.L., WADKINS, C.L., COOPER, C. , DEVLIN, T.M. et GAMBLE, J.L. Jr-

I958. Oxydative phosphorylation. Sciences. 128, 450-456.

LOWRY, OH et Al. -

I954. J. Biol. Chem. 207-39.

LUMSDEN, C.-

I958. In Metabolism of the nervous system. Richter ed. 9I. Pergamon.

LUSE, S.- I958. The ultrastructure of normal and reactive astrocytes. Lab. Investigation. 7, 40I.

MC ILWAIN, H.-

I95I. Biochem. J. 78- 24.

MC ILWAIN, H.-

I966. Biochemistry and the central nervous system. Churchill.

MANERY, J.F. et BALE, W.F.-

1941. Amer. J. Physio. 132, 215-231.

MANERY, J.F. et HAEGE, L.F.-

1941. Amer. J. Physiol. I34, 83-93.

MARINESCO, G. -

I9I9. C.R. Soc. Biol. Paris 82-98.

MARKS, N. et MC ILWAIN, H.-

I959. Biochem. J. 73-40I.

MAXWELL, D.S. et KRUGER, L.-

I965. The fine structure of astrocytes in the cerebral cortex, and their response to focal injury produced by heavy ionizing particles; J. Cell. Biol. 25. N° 2, part. 2, I4I-158.

MEYER, J.S., FANG, H.C. et DENNY BROWN, D.-

I954. Arch. Neurol. Psychiat. 72, 296.

MIQUEL, J. et HAYMAKER, W-

I965. Astroglial reactions to ionizing radiation with emphasis on glycogen accumulation. In biology et Neuroglia. De Robertis et Carrea ed. 89-II4. Elsevier. Amsterdam.

MULLER, W. and NASU, H.-

I962. Enzymhistochemische Untersuchungen an Gliomen. Naturwissenschaften, 2I, 496-497.

NACHLAS, M.M., TSOU, K.C. DE SOUZA, E., CHENG, C.S. et SELIGMAN, A.M.-

I957, J. Histochem. and Cytochem. 5, 420-436.

NACHLAS, MM. , WALKER, D.G. et SELIGMAN, AM.-

I958. J. Biophys. Biochem. Cytol.
a - 4, 29-38.
b - 4, 467-474.

NELSON, E., OSTERBERG, K., BLAW , M., STORY, J. et KOZAK, P. I962.

Electron microscopic and histochemical studies in diffuse sclerosis. Neurology. 12, 896-909.

NICHOLLS, J.G. et KUFFLER, S.W.-

I964. Extra-cellular space as a pathway for exchange betwen blood and neurons in the CNS of the leech. J. Neurophysiol. 27, 643-67I.

NOVIKOFF, A.B., SHIN, W.Y., DRUCKER, J.-

I96I. Mitochondrial localisation of oxidative enzymes : staining results wifle two tetrazolium saltz. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9, 47.

O'CONNOR, J.S. et LAWS, E.R. Jr -

I963. Histochemical survey of brain tumors enzymes. Arch. of Neurol. 9, 6, 64I-65I.

OLSZEWSKI, J. et BAXTER, D.-

Cytoarchitecture of the human Brain Stem. I954. S. Karger. Bâle.

OSTERBERG, K. et WATTENBERG, L.-

I962 - Oxidative histochemistry of reactive astrocytes. A.M.A. Arch. Neurol. 7, 211-218.

OSTERBERG, K et WATTENBERG, L.W. -

I963. The age of dependency of enzymes in reactive glia. Proc Soc. Exper. Biol. Med. 8, 113-145.

PADR, Z - I959. Tetrazolium saltz : their preparation and use in Biology and Medecine Traduction par Claudius Meyer. Prague.

PALAY, S.L.- An electron microscopical study of Neuroglia in Biology of Neuroglia I958. Windle ed. p. 24-38.

PEARSE, A.G.E.

I96I. Principles of dehydrogenase histochemistry in : Histochemistry theoritical and applied. P. 536. J. and A. Churchill.

PEARSE et al. -

I958-I959, voir référence précédente.

PETERSON, E.R., et MURRAY, M.R.,

I955. Myelin sheath formation in cultures of avian spinal ganglia Amer. J. Anat. 96, 3I9-356.

POLAK, M.- I965. Morphological and Unctionnal characteristics on the Central and Peripheral neuroglia (light microscopial observations) In Biology of Neuroglia De robertis et Carrea ed. I965;P. 12-34 Elsevier.

POTANOS, AN, WOLF, A., COWEN, D.-

I959. Cytochemical localisation of oxidative enzymes in human nerve cells, and neuroglia. J. Neuropathol. Exp. Neurol. I8, 627.

RAMON Y CAJAL, S.,

I9I0-I9II. Histologie du système nerveux de l'homme et des vertèbres. Paris, Maloine.

RAMON Y CAJAL, S.-

I932. Etude sur la névroglie (macroglie) Trab. Lab. Invest. Biol. II, 27.

RIED, W.- I952. Angew; chem. 64, 39I-396.

ROBINS, E., SMITH, D.E., EYDT, K.M. et Mc CAMAN, R.E.I956, J. Neurochem. I, 68.

ROSA, C.G. et VELARDO, J.T.-

I954. J. Histochem. and Cytochem. 2, 110-114.

RUBINSTEIN, L.J., KLATZO, I. et MIQUEL, J.-

I962. Histochemical observations on oxidative enzyme activity of glial cells in a local brain injury. J. Neuropath. Exp. Neurol. 21, 116-137.

RUBINSTEIN, L.J. et SUTTON, C.H.-

I963. Histochemical observations on oxidative enzyme activity in tumors of the nervous system. 39 th. Annual Meeting, American Association of Neuropathologists.

SABATINI, D.D., BENSCH, K. et BARRNETT, R.J.-

I963. J. Cell. Biol. I7-I9.

SAMORAJSKI, T.-

I960. The application of DPND. Methods in study of Dorsal Ganglia and spinal cord. J. of. Neurochem. 5, 439-353.

SCARPELLI, D.G., HESS, R. et PEARSE, AGE -

I958 . J. Biophys. Biochem. Cytol. 4,747, 752.

SCHEIBEL, M.E. et SCHEIBEL, A.B.-

I958. Neurons and Neuroglia cells as seen with the light microscope. In Biology of Neuroglia. Winfle ed. Ch. Thomas p. 5-23.

SCHIFFER, D. et VESCO, C.-

I962. Contribution to the histochemical demonstration of some dehydrogenase activities in the human nervous tissue. Acta. Neuropath. 2, 103-112.

SHIMIZU, N. et HAMURO, Y.-

I958. Deposition of glycogen and changes in some enzymes in brain wounds Nature I8I, 78I-782.

SMITH, B.- I963, Dehydrogenase activity in reactive and neoplastic astrocytes. Brain. 86, 89-94.

STERNBERG, W.H., FARBER, E. et DUNLAP, C.E.-

I956. J. Histochem. and Cytochem. 4, 266-283.

STRAUSS, F.H., CHERON, SND, et STRAUSS, E.-

I948. Science 108, II3-II5.

TASAKI, I.- I965. Excitability of Neurons and Glial Cells, in Biology of Neuroglia De Robertis et Carrea ed. 234-242. Elsevier.

THOMAS, E. et PEARSE AGE-

I96I. Z. Zellforsch. Abt. Histochem. 2, 266.

TRUMP, et Al. I964, J. Histochem. Cytochem. I2, 24.

VAN HARREVELD, A..

I96I. Asphyxial changes in cerebrallar cortex. J. Cell. and Comp. Physiol. 57, I0I.

VAN HARREVELD, A.-

I962. Water and electrolyte distribution in the central nervous tissue. Fed. Proc. 2I. 659.

VAN HARREVELD, A. et MURPHY, T. et NOBEL, K.W.,

I963. Specific impedance of rabbit's cortical tissue. Am. J. Physiol. 205-208.

VAN HARREVELD, A. et OCHS, S. -

I956. Cerebral impedance changes after circulatory arrest. Am. J. Physiol. I87, I80.

VAN HARREVELD, A. et SCHADE, J.P. -

I960. On distribution and movement of water and electrolytes in the cerebral cortex in : Structure and Function of the cerebral cortex. Tower et Schade ed. 239. Elsevier. Amsterdam.

VAN HARREVELD, A. CROWELL, J. et MALHOTRA, S.K.

I965. A study of extracellular space in central nervous tissue by freeze substitution J. Cell. Biol. 25, n°1, 117-138.

VAN HOUTEN W.H. et FRIEDE, R.L.,

I96I. Histochemical studies of experimental Demye-produced with cyanide. Exp. Neurol., 4, 402-412.

VON HAYEK, H.-

I950 : Naturwissenshaften, 37, 262-263.

WARBURG et al.-

1924, cités par Dixon. Biochem. Zeit. I52-309.

WEISS, P.- I962. The concept of perpetual neuronal growth. In regional neuro-chemistry. Kety et Elkes ed. Pergamon Londres.

WINTERSTEIN, H.-

I906, cité par Dixon. Zbl. Physio. 20-4I.

WOODBURY et al.- I956. Distrubtion of radiochloride, radiosulfate, and inuline in brain of rats. Fed. Proc. I5, 50I.

WRIGHT, G.P.- I96I. Métabolism of myelin. Proc. Roy. Soc. Med. 54-2630

ZIMMERMANN et PEARSE, AGE.- I959, J. Histochem. Cytochem. 7-271.

EDITIONS A.G.E.M.P.
8 RUE DANTE
- PARIS V^e -
ODÉ 58-90